

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՏՐԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

BIOLOGICAL JOURNAL
of ARMENIA

Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա
 Национальная Академия Наук Армении
 National Academy of Sciences of Armenia

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

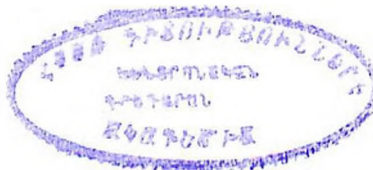
Հատոր 55, 4, 2003

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
 ЖУРНАЛ АРМЕНИИ

BIOLOGICAL JOURNAL
 of ARMENIA

Том 55, 4, 2003

Volume 55, 4, 2003



Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես, 2003

© Биологический Журнал Армении, 2003

Biological Journal of Armenia, 2003

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հոդվածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսատեխնոլոգիայի, միկրոբիոլոգիայի, գենետիկայի և ընդհանուր ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

“Биологический журнал Армении” издается Национальной Академией Наук Армении и публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, биотехнологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

“Biological Journal of Armenia” is functioning under the auspice of the National Academy of Sciences of Armenia and publishes original papers in botany, zoology, physiology, biochemistry, biophysics, microbiology, biotechnology, genetics and other fields of general and applied biology.

Editor - in chief - E.G. Afrikan

Executive Secretary - N.H. Apinyan

Խմբագրական կոլեգիա՝ Է.Գ.Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ծ.Մ.Ավագյան, Մ.Ա.Դավթյան, Ժ.Ի.Հակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ.Հարությունյան, Կ.Գ.Ղարազյուրյան, Ս.Խ.Մայրապետյան, Ա.Հ.Մովսիսյան, Ն.Հ. Ապինյան (պարասխանատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ա.Ս.Աղաբալյան, Յու.Թ.Ալեքսանյան, Է.Ց.Գաբրիելյան, Ա.Ա.Գալոյան, Ա.Լ.Թախտաջյան, Բ.Ց.Ղարիբջանյան, Կ.Ս.Ղուղոսյան, Ա.Գ.Փանոսյան, Լ.Լ.Օսիպյան

Редакционная коллегия: Э.К.Африкян (главный редактор), Ц.М.Авакян, Ж.И.Акопян (заместитель главного редактора), Р.М.Арутюнян, М.А.Давтян, К.Г.Карагезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Мовсесян, Н.А. Апинян (ответственный секретарь)

Редакционный совет: Э.К.Африкян (председатель), А.С.Агабалян, Ю.Т.Алексанян, Э.Ц.Габриелян, А.А.Галоян, Б.Т.Гарибджанян, Л.Л.Осипян, А.Г.Паносян, К.С.Погосян, А.Л.Тахтаджян

Օրիգինալ հոդվածներ • Оригинальные статьи • Original articles

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК [616.36-018.82+616.155]:613.167

**ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА АТФ-азную
АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ И МЕМБРАН
ЭРИТРОЦИТОВ**

Г.Г. АРЦРУНИ, О.П. СОЦКИЙ, М.А. СААКЯН

Научно-исследовательский центр ЕРГМУ им. Мхитара Гераци, 375025, Ереван

Исследовались активности Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , HCO_3^- - зависимых АТФ-аз митохондрий печени и мембран эритроцитов крыс, подвергшихся воздействию электростатического поля напряженностью 200 кВ/м, длительностью 1ч, 24 ч и 6 сут по 6 ч ежедневно. Показано, что действие электростатических полей приводит к изменениям активности изучаемых АТФ-аз; степень изменений зависит от изучаемого объекта, длительности воздействия и типа АТФ-азы. Наиболее выраженные сдвиги активности имеют место после кратковременных воздействий.

Ուսումնասիրվել է 200 կՎ/մ լարվածության էլեկտրաստատիկ դաշտի (ԷՍԴ), 24 ժ միաժամանակյա և 6 օր տևողությամբ 6-ական ժ կոտորակային ազդեցությունը առնետների լյարդի միտոքոնդրիումների և էրիթրոցիտների թաղանթների Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} և HCO_3^- ԱՖՖ-ազների ակտիվությունների վրա: Ցույց է տրվել, որ ԷՍԴ-ի ազդեցությունը առաջացնում է ուսումնասիրված ԱՖՖ-ազների ակտիվության փոփոխություններ, որոնց աստիճանը կախված է ազդող դաշտի տևողությունից, ԱՖՖ-ազների տեսակից և ուսումնասիրվող օբյեկտից: ԱՖՖ-ազների ակտիվության փոփոխությունը առավել արտահայտված է ԷՍԴ-ի կարճատև ազդեցությունից հետո:

The activities of Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} and HCO_3^- dependent ATP-ases of rat liver mitochondria and erythrocyte membranes were investigated after 1, 24 hour and 6 day (6 hours per day) influence of 200 kV/m tensed electrostatic field. Electrostatic field causes alterations in the activities of ATP-ases under study, the extent of which depends on the chosen object, influence duration and ATP-ase type. More expressed changes in the mentioned activities occur after short-term treatments.

Электростатическое поле - активность АТФ-аз

Ранее нами было показано, что воздействие электростатическим полем (ЭСП) приводит к существенным сдвигам в структурном и функциональном состоянии митохондрий [1, 10]. Эти исследования, а также работы других авторов [11, 12] дают основание полагать, что воздействие ЭСП вызывает заметные нарушения в энергетическом обмене, что не может не отразиться на активности ферментных систем, связанных с энергетическим обменом. Возможно и обратное: воздействие ЭСП непосредственно или опосредованно влияет на активность этих ферментов, что может привести к нарушению

энергетического обмена.

Целью настоящего исследования явилось изучение активности АТФ-аз митохондрий печени и мембран эритроцитов белых крыс, подвергшихся воздействию ЭСП.

Материал и методика. ЭСП создавали при помощи установки конденсаторного типа со строго контролируемыми параметрами поля. Подробное описание установки дано в работе [3]. Объектом исследования служили печеночная ткань и кровь самцов белых крыс массой 130-160 г, подвергшихся воздействию ЭСП напряженностью 200 кВ/м. Исследовали влияние трех экспозиций: часовой, суточной и дробной (6 ч ежедневно в течение 6-и дней). Для каждой экспозиции было использовано по 10 животных, которых забивали непосредственно после окончания воздействия полем. Контролем служили интактные животные.

Во избежание влияния циркадных ритмов все заборы проводили в одно и то же время суток. Митохондрии были выделены по методике, описанной в работе [14].

Активность Mg^{++} и HCO_3^- АТФ-аз митохондрий определяли по методике [7], активность АТФ-аз эритроцитарных мембран - по методу [8]. Во всех случаях при определении АТФ-азной активности реакцию начинали добавлением АТФ, останавливали добавлением холодного ТХУ. Активность АТФ-аз выражали в мкМ на 1 мг белка на 1 ч. Содержание неорганического Р определяли по методу [13], белок по методу Лоури [15]. Статистическая обработка результатов проведена по методу Стьюдента-Фишера.

Результаты и обсуждение. Согласно таблице, воздействие ЭСП приводит к изменениям АТФ-азной активности ферментов митохондрий, а степень сдвигов зависит от длительности воздействия. Так, часовое воздействие приводит к заметному ингибированию Mg^{++} и HCO_3^- АТФ-аз митохондрий (на 30,8 % и 30,4 % соответственно). После суточного воздействия активность Mg^{++} АТФ-азы остается на том же уровне, а активность HCO_3^- АТФ-азы несколько повышается, однако не достигает контрольного уровня.

Таблица. Динамика изменений активностей АТФ-аз митохондрий печени и мембран эритроцитов при воздействии ЭСП, мкМ Р/мг белка/ч

	Эритроциты				Митохондрии	
	K^+, Na^+	Mg^{++}	HCO_3^-	Ca^{++}	Mg^{++}	HCO_3^-
Контроль	$3,13 \pm 0,55$	$10,8 \pm 1,52$	$1,94 \pm 0,45$	$7,55 \pm 0,70$	$198,2 \pm 11,02$	$261,16 \pm 12,8$
1 час	$4,73 \pm 0,92$ $t=1,49$	$8,66 \pm 1,04$ $t=1,17$	$1,63 \pm 0,39$ $t=0,52$	$4,09 \pm 0,45$ $t=4,15$	$137,14 \pm 5,76$ $t=4,91$	$181,77 \pm 8,14$ $t=10,80$
1 сутки	$4,74 \pm 0,35$ $t=2,48$	$5,74 \pm 0,36$ $t=13,2$	$1,63 \pm 0,27$ $t=0,50$	$5,81 \pm 0,65$ $t=1,82$	$137,32 \pm 7,62$ $t=4,54$	$202,16 \pm 9,63$ $t=3,68$
1 неделя	$2,44 \pm 0,37$ $t=1,04$	$12,05 \pm 0,56$ $t=0,78$	$2,335 \pm 0,27$ $t=0,75$	$6,29 \pm 1,05$ $t=0,79$	$177,79 \pm 9,70$ $t=1,39$	$218,6 \pm 9,40$ $t=2,68$

Как следует из полученных данных, влияние ЭСП на изучаемые ферментные системы наиболее выражено при кратковременных воздействиях. При дробном воздействии наблюдается тенденция к нормализации активности изучаемых АТФ-аз митохондрий. Полученные результаты коррелируют с предыдущими нашими исследованиями [1, 10], где показано, что наиболее выраженные изменения дыхательной и фосфорилирующей активности митохондрий печени наблюдаются при 24-часовом воздействии ЭСП. Электронно-микроскопические исследования [1] показали, что наиболее выраженные изменения в структуре митохондрий наблюдаются при 24-часовом

воздействии ЭСП.

Заметное подавление АТФ-азной активности в митохондриях печени при одночасовой экспозиции ЭСП при отсутствии значительных сдвигов в структурном и функциональном состояниях митохондрий, возможно, объясняется тем, что сдвиги в АТФ-азных системах предшествуют изменениям функционального и структурного состояний, а также существованием других факторов, участвующих в регуляции активности АТФ-аз. В работах [2, 4, 6] показано, что воздействие ЭСП, особенно кратковременное, вызывает стресс-реакцию и приводит к активации симпато-адреналовой системы, сопровождается накоплением катехоламинов, глюкопротеидов, активацией липидной перекисидации.

Интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к повышению уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ, которые могут выступить в качестве мощных модификаторов липидного бислоя, его фосфолипидного компонента за счет активации фосфолипаз С и А. Модификация липидного бислоя мембранных структур не может не отразиться на микровязкости липидного бислоя, на характере липидбелковых взаимодействий, и, как следствие, на активности мембранных ферментов, в особенности, липидзависимых, и, в частности, ионотранспортирующих [5, 9]. С другой стороны, известно, что активность АТФ-аз, в частности, Na^+ ; K^+ - АТФ-азы зависит также от гормонального статуса [9].

В мембранах эритроцитов крыс нами выявлены все исследованные АТФ-азы. Надо отметить, что, по данным Макаренко [8], в мембранах эритроцитов человека из всех определяемых АТФ-аз наибольшей активностью обладала HCO_3^- АТФ-аза, а в наших экспериментах, проведенных по тому же методу, HCO_3^- АТФ-аза имела минимальную активность. Как следует из таблицы, часовое воздействие приводит к заметному снижению активности Ca^{++} АТФ-азы (на 45,8 %). Сдвиги в активностях Na^+ ; K^+ ; HCO_3^- АТФ-азах при этом сроке статистически недостоверны. При суточном воздействии наблюдается статистически достоверное повышение Na^+ ; K^+ АТФ-азы и заметное угнетение Mg^{++} АТФ-азы. При дробном воздействии в мембранах эритроцитов, так же как и в митохондриях печени, наблюдается тенденция к нормализации транспортных АТФ-аз.

В работах [2, 4, 6] нами показано, что воздействие ЭСП изучаемых параметров приводит к значительным изменениям структурного и функционального состояний надпочечников, интенсификации ПОЛ в печеночной ткани. Необходимо отметить, что зависимость выявленных изменений от длительности воздействий симпатны изменениям активности изучаемых АТФ-аз.

Таким образом, выявленные нами изменения АТФ-азной активности, по всей видимости, являются следствием изменения гуморального статуса организма и изменений интенсивности ПОЛ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что воздействие ЭСП приводит к изменению активности транспортных АТФ-аз митохондрий печени и мембран эритроцитов, при этом эти изменения наиболее ярко выражены

При кратковременных воздействиях. Изменение АТФ-азной активности отражает сложные метаболические постройки организма при действии ЭСП. Не исключено, что одной из причин выявленного нами ранее нарушения окислительного фосфорилирования [1, 10] при воздействии ЭСП является нарушение функций мембранных АТФ-аз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арируни Г.Г., Авакян Л.А. Биол. журн. Армении, 33, 11, 1195-1200, 1980.
2. Арируни Г.Г., Зильфян А.В., Азгалдян Н.Р., Довлатян Р.А. Космическая биология и авиакосмическая медицина, 6, 67-70, 1987.
3. Арируни Г.Г. Материалы конференции молодых ученых, посвящ. XXV съезду КПСС, Ереван, с.32, 1975.
4. Арируни Г.Г., Межлумян Л.М., Саакян Р.А. Биол. журн. Армении, 33, 11, 1185-1188, 1980.
5. Бурлакова Е.В. В сб.: Липиды—структура, биосинтез, превращение и функции. М., 16-27, 1997.
6. Довлатян Р.А., Зильфян А.В., Якушкина И.Я., Арируни Г.Г. Ж. эксп. и клинич. медицины, 6, 550-554, 1987.
7. Иващенко А.Т., Бушеева И.Л., Утерулин К.Р. Вопросы мед. химии, 3, 306-308, 1980.
8. Макаренко Е.В. Лаб. дело, 2, 14-17, 1987.
9. Микаелян Э.М. Докт. дисс., Ереван, 1989.
10. Мкртчян С.Л., Арируни Г.Г. Биол. журн. Армении, 40, 7, 750-757, 1987.
11. Портнов Ф.Г. В кн.: Проблемы космической биофизики, Рига, с.42, 1972.
12. Роман И.И. Канд. дисс., Томск, 1975.
13. Якушева И.А., Орлова Л.И. Лаб. дело, 8, 437-440, 1970.
14. Яценко Н.Д. В кн.: Методы биохимических исследований, Л., 30-34, 1982.
15. Lowry O.H., Roserbrough N.I., Farr A.H., Randell P.J. J. Biol. Chem., 193, 265pp., 1951.

Поступила 11.IX.2000

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 615.31:547.857:616

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ ЭРИТРОЦИТОВ И ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

Л.Г. ПОГОСЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, 375044, Ереван

Показаны значительные различия в кинетических свойствах фермента пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ), выделенного из эритроцитов и опухолевых тканей человека. Обнаружены соединения, обладающие высокой ингибиторной активностью в отношении ПНФ.

Ցույց են տրվել զգալի տարբերություններ մարդու էրիթրոցիտներից և ուռուցքային հյուսվածքներից անջատված պուրիննուկլեոզիդֆոսֆորիլազա (ՊՆՖ) ֆերմենտի կինետիկական հատկություններում: Գտնվել են միացություններ ՊՆՖ-ի նկատմամբ բարձր ինհիբիտորային սելեկտիվությամբ:

Considerable difference in the kinetic properties of purinenucleosidphosphorilase (PNP) enzyme was shown which picked out of the human erythrocytes and tumour tissues. There has been found compounds which possess the high inhibition activity towards PNP.

Пурииннуклеозидфосфорилаза - пуриновые нуклеозиды

Пурииннуклеозидфосфорилаза (ПНФ) (Кф 2.4.2.1) играет важную роль в усвоении клеткой нуклеотидов и нуклеозидов. Фермент катализирует обратимую реакцию фосфоролиза пуриновых (дезоксирибонуклеозидов с образованием (d-Rib-1-P) и соответствующих оснований, которые служат основным источником пуринов [1-4]. Повышенный интерес к этому ферменту в настоящее время вызван тем, что изучение ПНФ может служить специфическим диагностическим тестом при ряде заболеваний, связанных с иммунодефицитными состояниями. Целью работы является сравнение субстратной специфичности ПНФ из эритроцитов и опухолевых тканей легких и почек человека, а также поиск малотоксичных и эффективных ингибиторов ПНФ. Данные скрининга аналогов пуриновых нуклеозидов будут содействовать созданию биологически активных соединений с выраженными противоопухолевыми и противовирусными свойствами, некоторые из которых уже нашли свое применение в создании Т-клеточного иммунодефицитного статуса организма при трансплантации органов и тканей, при химиотерапии ряда патологий как потенциальных лечебных препаратов [2].

Материал и методика. ПНФ была выделена нами из опухолевых тканей легких и почек человека методом биоспецифической аффинной хроматографии. Фермент из эритроцитов выделен в отделении биофизики Варшавского университета.

Ферментативную активность ПНФ определяли колориметрически по приросту

гуанина, количество которого измеряли по цветной реакции с реактивом Фолина. Все пуриновые производные (было использовано 22 аналога) изучены на способность ингибировать реакцию фосфоролиза гуанозина и инозина. При этом фосфорилитическую активность фермента определяли спектрофотометрически на двухлучевом спектрофотометре SPECORD M-40, ГДР с термостатируемой кюветой по изменению поглощения вследствие различий в молярной адсорбции субстрата и продукта при 258 нм. Концентрация аналога в реакционной смеси, содержащей 50мМ Na-фосфатный буфер, pH 7.0, составляла 0.1мМ.

Реакцию фосфоролиза нуклеозидов проводили при 37°, за единицу ферментативной активности принимали количество фермента, катализирующее превращение 1мкМ субстрата за 1 мин. Реакционная смесь состояла из 0.29 мл 1мМ раствора гуанозина, 0.01 мл фермента, 2.4 мл реактива А для определения белка по Лоури, 0.25 мл реактива Фолина. Фотометрировали на спектрофотометре LKB (Швеция) при 750 нм.

Для определения скорости реакции фосфоролиза инозина применяли реакционную смесь следующего состава: 0.2 мл 0.5мМ инозина, 0.25 мл 0.2М Na-фосфатного буфера, pH 7.0, 0.35 мл воды, 0.2 мл ингибитора, 2 мкл ксантиноксидазы и 30 мкл ПНФ. Реакцию проводили в термостатируемой кювете при 25° на спектрофотометре с длиной волны 300 нм. Константу ингибирования определяли при 25°, pH 7.0, в 50мМ фосфатном буфере и концентрации аналогов 50 мкМ.

В опытах использовали: гуанозин, инозин, 7-метилгуанозин, 7-метилюинозин, а также 12 ациклических аналогов пуриновых нуклеозидов, синтезированных в Швеции, и 10, синтезированных в Латвии.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследований были определены K_m для ПНФ из опухолей легких и почек человека. Оказалось, что они отличаются от K_m для ПНФ эритроцитов. Кроме того, анализируя кинетику начальных скоростей реакций, катализируемых ферментом из опухолевой ткани в широком диапазоне концентраций субстратов, мы пришли к выводу о возможной кооперативности во взаимодействии каждого из опухолевых ферментов с субстратом инозином. Кинетические константы для фосфоролиза инозина и 7-метилгуанозина, катализируемого ферментом из эритроцитов, а также опухолевых тканей легких и почек человека, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Кинетические константы некоторых субстратов из различных тканей и органов человека

Субстрат	Метод	Концентрация субстрата, мкМ	K_m , мкМ	V_{max} , мкМ/мин ⁻¹ /мл ⁻¹
Почки				
Инозин	В течение	< 40	27,2	0,37
		> 40	130	0,9
Инозин	Нач. скорость	< 40	29,3	0,32
		> 40	108	0,58
7-метил-гуанозин	Нач. скорость	Нет активности	14	0,48
Легкие				
Инозин	В течение	< 22	11	0,44
			94	1,1
7- метил-гуанозин	Начальная скорость	Нет активности	15	0,28
Эритроциты				
Инозин	В течение	< 40	9,3	0,23
		> 40	85	0,94
7- метил-гуанозин	Начальная скорость	Нет активности	10	0,64

Из данных таблицы видны значительные различия в кинетических свойствах, кинетической константе фосфорилиза ферментов из опухолевых тканей и эритроцитов человека. В клетках человеческого организма ПНФ проявляет достаточно высокую активность. Карсон с сотр. показали, что во всех человеческих тканях, кроме тимуса, активность ПНФ выше, чем аденозиндезаминазная активность. В эритроцитах активность ПНФ (10-15 ед/мл) позволяет фосфорилировать во всем теле взрослого человека около 5-6 г инозина в минуту [5].

Согласно данным литературы, ингибиторная специфичность фермента из эритроцитов человека не отличается от ингибиторной специфичности фермента, выделенного из нормальных тканей органов кролика [3]. Анализ экспериментальных данных показал, что один и тот же ингибитор имеет $K_i = 2 \times 10^{-7}$ к ферменту, выделенному из нормальных тканей, и $K_i = 2 \times 10^{-8}$ к ферменту из опухолевых тканей, то есть, сродство ингибитора к ферменту из нормальных тканей выше, чем к таковому из опухолевых тканей.

Таблица 2. Действие аналогов* на ПНФ из эритроцитов и опухолевых тканей легких и почек человека

N	Аналоги	C_i , мкМ Эритр.	K_i , мкМ Эритр.	K_i , мкМ Почки	K_i мкМ Легкие	V_i/V Почки	V_i/V Легкие
1	9-(2-метил-3,4-дигидроксибутил) гуанин	3,9	1,8	1,2	3,2	0,71	0,6
2	9-(2-метокси-3,4-дигидроксибутил) гуанин	6,6	2,8	1,5	2,2	0,34	0,5
3	9-(2-флюоро-3,4-дигидроксибутил) гуанин	8,4	3,5	0,59	3,5	0,22	0,55
4	9-(2-флюоро-3,4-дигидроксибутил) гидро-ксантин	62,6	25	44	43	0,5	0,53
5	9-(4-гидроксибутил) гуанин	108	52	32	52	0,6	0,67
6	9-(4-гидроксибутил) аденин	131	>100	>500	63	0,92	0,84
7	9-(3,4-гидроксибутил) гуанин	40	21	3,8	11	0,23	0,39
8	7-метил-9-(3,4-гидроксибутил) гуанин	89	43	>200	214	0,85	0,71
9	8-бром-9-(3,4-гидроксибутил) гуанин	8,8	3,7	0,35	4,4	0,087	0,39
10	8-амино-9-(3,4-гидроксибутил) гуанин	10,4	4,3	1,8	5,4	0,3	0,82
11	9-(3-карбоксии-4-гидроксибутил) гуанин	96	>200	190	250	0,83	0,91
12	9-(3-метокси-4-гидроксибутил) гуанин	209	~100	470	240	0,87	0,4

Примечание: * аналоги синтезированы в Швеции.

Проведен предварительный скрининг ациклических аналогов пуриновых нуклеозидов с целью возможного обнаружения их субстратных или ингибиторных свойств. Изучена аффинность этих аналогов к обоим опухолевым ферментам и проведено сравнение результатов с ранее известными в литературе аналогичными данными для ПНФ эритроцитов человека. Согласно литературным данным, аналоги, синтезированные в Швеции, являются сильными ингибиторами ПНФ эритроцитов человека [6, 7].

Оказалось, что ряд соединений обладает большим различием в степени воздействия на активность ПНФ из нормальных и опухолевых тканей. Обнаружены соединения с высокой ингибиторной селективностью воздействия на активность ПНФ из опухолевых тканей. Действие каждого из аналогов проверяли на ферментах из эритроцитов, опухолей легких и почек. В качестве субстрата в данном эксперименте использовали инозин (табл.2).

Из таблицы видно, что все ингибиторы проявляют приблизительно одинаковые ингибирующие свойства на ПНФ из опухолей легких, а для фермента из опухолей почек значения констант ингибирования варьируют в разных пределах.

Таблица 3. Действие ациклических аналогов* на активность ПНФ из эритроцитов человека

Аналоги	Основания	Позиция в ациклической цепи	Ациклическая цепь	V_0/V_i	K_i , мкМ	V_{max}/K_m
EA-149	Гуанозин	N(7)	$(CH_2)_2NHCH(CH_2OH)_2$	4,4	5,0	3,2
EA-279	"-	N(7)	$(CH_2CHONCH_2NHCH(CH_2OH)_2$	-	-	-
EA-246	"-	N(7)	$CH_2CHONCH_2NHCH_2CH_2OH$	-	-	-
EA-275	"-	N(7)	$CH_2CH_2N(CH_3)_2ClCH_2CH_2OH$	-	-	-
EA-224	"-	N(7)	$CH_2O(CH_2)_2NHCH(CH_2OH)_2$	35	88	51
EA-129	"-	N(9)	$(CH_2)_2NHCH(CH_2OH)_2$	4,1	11,1	3,9
EA-238	"-	N(9)	$(CH_2)_2NHC(CH_2OH)_3$	31	206	67
NR-648	nhGua	N(9)	$(CH_2)_2NHCH(CH_2OH)_2$	12,1	-	9,1
NR-652	shGua	N(9)	$(CH_2)_2NHCH(CH_2OH)_2$	2,4	2,2	2,4
NR-643	brGua	N(9)	$(CH_2)_2NHCH(CH_2OH)_2$	2,8	2,5	2,8

Примечание: * аналоги синтезированы в Латвии.

Проведен также предварительный скрининг 10 ациклических аналогов, синтезированных в Латвии, на активность ПНФ из эритроцитов человека (табл.3).

Из табл. 3 видно, что ни одно соединение не является потенциальным ингибитором ($K_i < 1$ мкм). Вероятно, при конструировании ациклических аналогов необходимо введение в их структуру таких лигандов, которые способствовали бы повышению сродства активного центра фермента к ним.

Активное участие ингибиторов ПНФ при ряде патологий указывает на важность и перспективность исследований как самого фермента, так и в особенности соединений, воздействующих и регулирующих его активность. Эти соединения, обладающие химиотерапевтическим действием, должны быть высоко специфичны и метаболически инертны. Рассчитано, что для ингибирования активности ПНФ на 99.9% требуется биологически активный ингибитор с величиной $K_i 10^{-8}$ М [8]. Однако лучшие биологически активные ингибиторы ПНФ, известные и используемые на данный момент, имеют величину K_i только в пределах 10^{-7} М.

Поиск новых эффективных специфических ингибиторов ПНФ имеет большую перспективу при лечении целого ряда патологий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ананьев А.В. Химия физиологически активных веществ. Нальчик, 66, 1988.
2. Ананьев А.В., Акопян Ж.И. Экспериментальная и клиническая медицина АН Арм.ССР, 3, 29, 266, 1989.
3. Ананьев А.В., Безирджян Х.О., Акопян Ж.И. Биохимия, 52, 12, 1987.
4. Ананьев А.В., Мауриньш Ю.А., Поэгле РА, Лудак М.Ю., Акопян Ж.И. Биоорганическая химия, 17, 6, 855, 1991.
5. Carson D.A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 56, 1977.
6. Farutin V., Masterson L., Andricopulo A.D., Cheng J., Riley B., Hakimi R., Frazer J.W., Cordes E.H. J. Med. Chem., J.1, 42, Issue 13P 2422, 1999.
7. Niwas S., Chand P., Pathak V.P., Montgomery J.A. J. Med. Chem., J 22, 37, Issue 15P 2477, 1994.
8. Stoekler J.P., Ealick S.E. Fed. Proc., 45, 12, 2773, 1986.

Поступила 03.IV.2002

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 612.35:531

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Г.Г. АРЦРУНИ, Р.А. ДОВЛАТЯН

Научно-исследовательский центр ЕГМУ им.М.Гераци, 375025, Ереван

Исследовалось влияние внешних электростатических полей (ЭСП) на морфофункциональное состояние печеночной ткани крыс в различные сроки последействия. Показано, что восстановительный период носит волнообразный характер, максимальные сдвиги наблюдаются сразу и через 7 сут последействия. Нормализация морфогистохимических показателей имеет место лишь на 30 сут последействия.

Առումնասիրվել է արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտերի (ԷՍՊ) ազդեցությունը առնետների լյարդի հյուսվածքների մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի վրա, ազդեցությունից հետո տարբեր ժամկետներում: Ցույց է տրվել, որ վերականգնողական ժամկետը կրում է ալիքաձև բնույթ: Առավելագույն փոփոխությունները դիտարկվում են անմիջապես և ազդեցությունից 7 օր հետո: Մորֆոհիստոքիմիական ցուցանիշների նորմալացումը տեղի է ունենում միայն ազդեցությունից 30 օր հետո:

The effect of external electrostatic field on rat hepatic tissues was studied in different time after the effect. It is shown that the recovery period is undulating. Maximum changes were observed immediately and in 7 days after the effect. Normalization of morphohistochemical parameters occurs only in 30 days after the influence.

Электростатическое поле - морфогистохимия печени - обменные процессы печени

Ранее нами было показано, что действие внешних электростатических полей (ЭСП) приводит к существенным изменениям обменных процессов в печеночной ткани. Так, наблюдаются подавление нуклеинового и белкового обменов, торможение протеолитических процессов, интенсификация процессов перекисного окисления липидов, изменение в процессах энергетического обмена и общей морфогистохимической картины печеночной ткани [2-5, 7, 8]. Однако работ, посвященных восстановительному периоду последействия ЭСП, в доступной нам литературе мы не встречали.

Целью представляемой работы являлось исследование морфофункционального состояния печени в различные сроки последействия ЭСП.

Материал и методика. Объектом исследования служила печень белых беспородных крыс, массой 130-160г, подвергшихся воздействию ЭСП напряженностью 200 кВ/м. ЭСП создавали при помощи установки конденсаторного типа с контролируемыми параметрами поля [1]. Экспериментальных животных делили на 3 группы, 1 группу животных подвергали воздействию ЭСП в течение 24 ч, 2 группу - 6 сут по 6 ч ежедневно, 3 группа - контрольные

животные. Животных забивали сразу и на 1-й, 4-й, 7-й, 14-й и 30-й дни после воздействий. Во избежание влияния циркадных ритмов все забои производили в одно и то же время суток. Кусочки печеночной ткани после соответствующей обработки окрашивали гематоксилин-эозином. Гликоген определяли по Шабдашу, NH_2 -группы белка по Иасума-Итчикава, РНК по Браше [9]. Параллельно брали свежемороженные криостатные срезы на определение кислой фосфатазы [6]. Количественную оценку активности фермента в условных единицах флюоресценции проводили в произвольных полях зрения в 50 печеночных клетках для каждого образца на микроцитометре с монохроматическим лучом длиной волны 550 нм. Активность фермента в гепатоцитах выражали в условных единицах флюоресценции. Статистическую обработку данных проводили согласно критерию Стьюдента. Всего в экспериментах использовано 50 животных.

Результаты и обсуждение. Ранее в работе [3] нами показано, что сразу после воздействия ЭСП напряженностью 200 кВ/м длительностью 24 ч и 6 сут по 6 ч ежедневно наблюдаются существенные изменения в цитоангиоархитектонике печеночной ткани, снижение содержания гликогена, NH_2 -групп белков, повышение активности кислой фосфатазы после 24-часового воздействия и его понижение после 6-суточного (табл.).

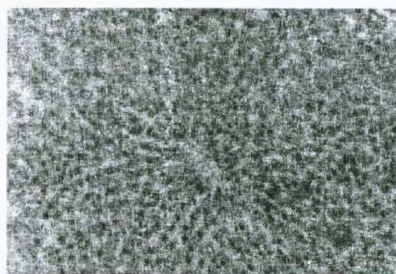
Таблица. Активность кислой фосфатазы после воздействия ЭСП напряженностью 200кВ/м (в условных единицах)

Время после воздействия, сут	Длительность действия ЭСП	
	24 ч	6 сут по 6 ч
0 (сразу после действия)	84.7 $\pm$ 0.25	59.7 $\pm$ 0.63
1	80.1 $\pm$ 0.35	58.2 $\pm$ 0.45
4	68.1 $\pm$ 0.15	65.2 $\pm$ 0.2
7	60.2 $\pm$ 0.2	55.4 $\pm$ 0.7
14	65.7 $\pm$ 0.35	63.4 $\pm$ 0.2
30	72.5 $\pm$ 0.16	68.9 $\pm$ 0.5
Контроль 70.8 $\pm$ 0.7		

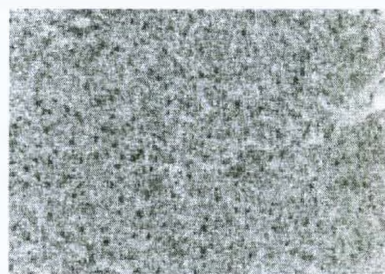
Исследования показали, что через сутки после 24-часового и 6-суточного воздействия морфогистохимические изменения печеночной ткани по своему характеру и глубине идентичны изменениям, наблюдаемым сразу после действия ЭСП. Следует отметить, что, согласно данным работ [2-4, 5, 8], через сутки после аналогичных воздействий ЭСП начинается восстановление исследованных параметров обменных процессов. Однако, как следует из вышеизложенного, восстановление биохимических показателей не отражается на морфогистохимическом уровне.

Через 4 сут после действия ЭСП и в 1, и во 2 группах животных (рис. 1а, б) имела место заметная активация клеток фибробластического ряда, признаки регенерации паренхиматозных элементов проявлялись в структурном упорядочении гепатоцитов, увеличении числа 2-ядерных форм гепатоцитов, нарастании, по сравнению с предыдущим сроком, содержания РНК, NH_2 -групп белка и гликогена. Заметные сдвиги, указывающие на нормализацию структуры

и функции, наблюдались и в системе гемомикроциркуляции. Однако во второй группе восстановление структурно-функциональных параметров печеночной ткани было менее выраженным. Активность кислой фосфатазы в обеих исследованных группах была близка к норме. Надо отметить, что степень восстановления биохимических параметров обменных процессов на 4-й день после воздействия [2-4, 5, 8] была выше, чем через сутки, и уже отражалась на цитоангиоархитектонике изучаемой ткани. Через 7 сут, как после 24-часового, так и после 6-суточного воздействия на фоне становления компенсаторно-приспособительных реакций наблюдаемые морфофункциональные изменения носили однонаправленный характер, однако после дробного воздействия были выявлены резче. Вновь возникали расстройства в системе гемомикроциркуляции, что проявлялось расширением центральных вен и микрососудов триад, развитием отека, лейкоцитарной и лимфоцитарной инфильтрацией. Наблюдались дискомплексация трабекул, в разной степени выраженные дистрофические изменения, чаще встречались гепатоциты с мелко- и крупнокапельной вакуолизацией. На отдельных участках выявлялись более резкие изменения гепатоцитов: гидропическая дистрофия и дистрофия типа жировой дегенерации, мелкие очаги некроза (рис.2а,б). Гистохимические исследования выявили в обеих исследованных группах снижение содержания гликогена, NH_2 -групп белка и заметное уменьшение содержания РНК в цитоплазме и ядрышках. Определение активности кислой фосфатазы в отмеченный срок выявило заметное ее снижение как в 1, так и во 2 группах (табл.).

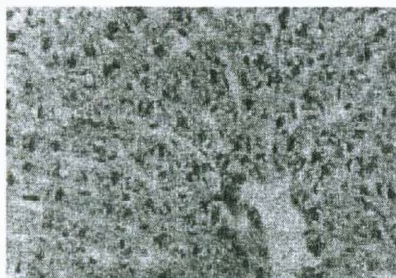


а

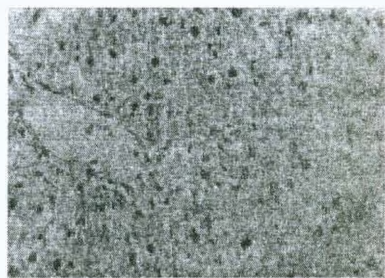


б

Рис. 1. Печень крысы спустя 4 дня после 24-часового (а) и 6-суточного (б) воздействия ЭСП. Окраска гематоксилин-эозином, об.х10, ок.х7.



а



б

Рис. 2. Печень крысы спустя 7 дней после 24-часового (а) и 6-суточного (б) воздействия ЭСП. Окраска гематоксилин-эозином, об.х40, ок.х7.

Таким образом, морфогистохимическая картина печеночной ткани через 7 дней после воздействий гораздо ближе к картине, наблюдаемой сразу после воздействия, чем через 4 сут последействия. Подобная волнообразность восстановительного периода наблюдалась нами ранее при исследовании самых различных обменных процессов [2-4, 5, 8].

На 14-е сутки последействия наблюдается неполное восстановление цитоангиоархитектоники печеночной ткани, но общая морфогистохимическая картина гораздо ближе к норме, чем на 7 сут и схожа с картиной, наблюдаемой на 4-й день последействий. И только на 30-й день морфогистохимическая картина печеночной ткани была в пределах нормы.

Таким образом, проведенные исследования и данные, полученные в наших предыдущих исследованиях [2, 4, 5, 8], позволяют заключить, что восстановительный период последействия ЭСП носит волнообразный характер. Максимальные сдвиги наблюдаются сразу и через 7 сут после воздействий, полное восстановление происходит только через 30 дней. Изменения, которые проявляются через определенные сроки последействия ЭСП, по всей видимости, являются следствием долговременных скрытых повреждений, которые проявляются через определенный период последействия по ходу восстановительного процесса.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Арицруни Г.Г. Конф. молодых ученых, посвящ. 25 съезду КПСС, Ереван, 32-34, 1975.
2. Арицруни Г.Г., Армениян А.Г. Журн. медицинская наука Армении, 1-2, 56-65, 1995.
3. Арицруни Г.Г., Довлатян Р.А., Зильфян А.В. Биолог. журн. Армении, 43, 1, 70-73, 1990.
4. Арицруни Г.Г., Межлумян Л.М., Саакян Р.А. Биолог. журн. Армении, 33, 11, 18-23, 1980.
5. Арицруни Г.Г., Овсепян Р.С., Пепанян Г.С. Биолог. журн. Армении, 32, 11, 11-14, 1979.
6. Берстон М. Гистохимия ферментов. М., 1965.
7. Мкртчян С.Л. Биолог. журн. Армении, 32, 2, 157, 1979.
8. Мкртчян С.Л., Арицруни Г.Г. Биолог. журн. Армении, 31, 7, 750-753, 1978.
9. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.

Поступила 11.IX.2000

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 616.831-005:313.13

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Л.Г. ГИМОЯН*, Г.Г. СИЛВАНЯН**, А.В. КАЗАРЯН***

*Ереванский государственный медицинский университет имени М.Гераци,
кафедра неврологии, 375025

**Институт геронтологии Академии медицинских наук Украины, г.Киев

***Национальный институт здоровья МЗ РА, курс ангионеврологии, 375051, г. Ереван

***II клиническая больница г.Еревана (база кафедры нервных болезней Ереванского
государственного медицинского университета им.М.Гераци), 375002

Проведен анализ сезонных месячных колебаний частоты развития различных по характеру и локализации мозговых инсультов и их летальных исходов. Геморрагические инсульты наиболее часто развиваются в холодное время года (январь, февраль, ноябрь, декабрь), а ишемические - в первую половину года (январь-июнь). Наименее благоприятно, обусловленные высокой летальностью и большим количеством осложнений, протекают мозговые инсульты в холодное время года (январь, февраль, ноябрь, декабрь). Минимальная летальность и количество осложнений отмечены в августе-сентябре. Как один из патогенетических механизмов развития сезонных колебаний рассматривается нарушение выработки мелатонина. Исследование хронобиологических аспектов цереброваскулярных заболеваний может открыть новые направления в лечении и профилактике.

Կատարվել է տարբեր բնույթի և տեղայնացման ուղեղային կաթվածների զարգացման և նրանց մահացու ելքի սեզոնային ամսական տատանումների հաճախականության անալիզ: Հետազոտվել կաթվածները առավել հաճախ զարգանում են տարվա ցուրտ եղանակին (հունվար, փետրվար, նոյեմբեր, դեկտեմբեր ամիսներին), իսկ իշեմիկ կաթվածները՝ տարվա առաջին կեսին (հունվար-հունիս ժամանակահատվածում): Նվազագույն չափով բարենպաստ են ընթանում ուղեղի կաթվածները տարվա ցուրտ ժամանակ (հունվար, փետրվար, նոյեմբեր, դեկտեմբեր ամիսներին), ինչը պայմանավորված է բարձր մահացու ելքով և բարդությունների մեծ թվով: Մահացության և բարդությունների միմիալ քանակ նշվել է օգոստոս-սեպտեմբեր ամիսներին: Որպես սեզոնային տատանումների զարգացման պաթոգենետիկ մեխանիզմ դիտվում է մելատոնինի սինթեզի խանգարումը: Ուղեղամոթային հիվանդությունների քրոնոկենսաբանական տեսանկյունների ուսումնասիրումը կարող է բացել բուժման և պրոֆիլակտիկայի նոր ուղղություններ:

The analyses seasonal monthly fluctuations of frequencies in development of stroke of different nature and localization and mortality outcomes are done based on the study of patients with verified diagnosis of stroke. The hemorrhagic stroke usually was developing in cold seasons: January, February, November, December, and ischemic - the first half of the year, i.e. January - June. The most unfavorable, conditioned by high mortality rates and big number of complications, turned out to be the strokes proceeding in cold seasons of the year: January, February, November, December. The minimum mortality rates and number of complications were noted in August - September. One of the pathogenetic mechanisms of development of seasonal fluctuations is considered to be the irregularity of melatonin production. The research of chrono-biological aspects of cerebrovascular diseases may bring to new tendencies of prophylaxis and cure.

Цереброваскулярные заболевания - мозговой инсульт - сезонность - биоритмы - летальность - смертность

В последние десятилетия во всем мире отмечается повышенный интерес к биоритмологии — науке, изучающей ритмичность организации как физиологических, так и патологических процессов в организме [2, 5, 7]. Интерес к проблемам биоритмологии закономерен, поскольку ритму, охватывающему все живое от деятельности субклеточных структур и отдельных клеток до сложных форм поведения организма и даже популяции, подчиняются многие процессы жизнедеятельности организма. В общей проблеме биоритмологии уже наметились самостоятельные направления: хронобиология, хронопатология, хронотерапия, хронофармакология, хронопрофилактика [5, 7].

Изучение изменчивости заболеваний от фактора времени (период суток, месяц, сезон года) является предметом хронобиологии. Наличие циркадианных (около 24 ч), циркатригентанных (около 30 дней) и циркануальных (около 1 года) изменений доказано в исследованиях многих авторов [7]. По мнению Алякринского [7], биологические ритмы являются факторами адаптации организма к окружающей среде, а следовательно, естественного отбора, а десинхронос — это компонент общего адаптационного стресс-синдрома. В рамках проблемы биоритмологической адаптации заслуживают особого внимания сезонные биоритмы, создающие относительную гарантию выживания отдельных особей, целых видов и популяций различных животных в условиях сезонного изменения среды обитания. И в летний период при температуре $+25^{\circ}$, $+30^{\circ}$ и обильной солнечной радиации, и в зимний период при температуре -20° , -30° и низкой солнечной радиации живая система сохраняет неизменные основные параметры, прежде всего температуру тела. Это осуществляется за счет изменения объемно-энергетических процессов, регулируемых центральным и гуморальным механизмами.

Комбинированный характер биологических ритмов, связанный с постоянно действующими природными факторами в ходе онто- и филогенетического развития млекопитающих, приобрел вид эндогенных ритмов, эволюционно генетически закрепленных. Хронобиологические ритмы четко выражены и у человека. Они проявляются изменением уровня и амплитуды колебаний самых разнообразных физиологических и патологических процессов. В частности, описаны сезонные колебания артериального давления (АД), агрегации тромбоцитов в плазме крови, липидного обмена, иммунореактивности, толерантности к глюкозе, чувствительности к различным лекарственным и токсическим веществам.

Сезонные колебания описаны при многих заболеваниях: язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, ревматизм, бронхиальная астма, эпилепсия, некоторые психические заболевания. Пик сезонных обострений зависит также от климатического пояса [3]. В этой связи представляется интересным выяснить наличие сезонных колебаний частоты развития цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ), в частности мозгового инсульта (МИ), а также тяжесть их течения (летальности).

Материал и методика. В исследование включены данные обследования 2002 больных с верифицированным диагнозом МИ, находившихся на лечении в неврологическом и ангионеврологическом отделениях II клинической больницы г.Еревана (база кафедры нервных болезней Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераци) за 1988-1998 гг. Согласно характеру поражения, все МИ были разделены на геморрагические инсульты (ГИ) и ишемические инсульты (ИИ), а по локализации - на правополушарные инсульты (ППИ), левополушарные инсульты (ЛПИ) и вертебробазиллярные инсульты (ВБИ).

Было подсчитано число случаев за каждый месяц и их доля (%) в общегодовом числе. Летальность МИ была определена как доля (%) умерших в остром периоде МИ к общему числу заболевших, а смертность - как количество смертельных исходов на 100000 населения. За острый период инсульта принят период 28 дней. Данные обработаны в системе Excel, вычислен коэффициент вариации при различных характерах и локализациях МИ. Достоверность различий определена согласно критерию Т-Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Согласно современным представлениям, существенная роль в регуляции хронобиологических ритмов отводится эпифизу и изменению концентрации мелатонина [4, 6, 8, 9]. Последнее приводит к рассогласованию как собственно биологических ритмов между собой (внутренний десинхронос), так и ритмов организма с окружающей средой (внешний десинхронос) [10, 11, 14].

В работах Forsling и соавторов [9] показано, что пинеалэктомия вызывает стойкое повышение уровня вазопрессина, что приводит к задержке натрия и воды и, как следствие, к повышению АД [9, 10]. При введении экзогенного мелатонина АД снижается. Уровень мелатонина в крови человека подвержен значительным колебаниям, обусловленным действием таких факторов, как пол, возраст, сон, свет, время года, температура окружающей среды и воздействие электромагнитных полей. Для мелатонина характерен циркадианный ритм колебаний уровня в крови: максимальная концентрация мелатонина регистрируется к середине ночи, а минимальная - в утренние часы. Прослежена взаимосвязь между временем развития острого нарушения мозгового кровообращения у людей в ранние утренние часы, когда уровень мелатонина наиболее низкий [1, 6, 12].

С фармакологической точки зрения эффект мелатонина обусловлен его антиоксидантным действием и снижением активности кальциевых каналов и симпатической нервной системы. Деятельность сердечно-сосудистой системы имеет четкий циркадианный ритм, изменение которого, а также уровня АД и сердечного ритма грозят осложнениями, включая внезапную смерть [1]. Убедительным доказательством зависимости сезонной перестройки от продукции мелатонина является применение его в животноводстве: скармливая мелатонин животным, удается получить летние сорта меховых шкурок в зимнее время [6]. Эти исследования открывают новое направление в медицине при лечении и профилактике сезонных обострений.

Как видно из представленных в табл. 1 данных, частота развития ГИ максимальная в холодное время года: январь, февраль, ноябрь, декабрь ($p < 0,05$) т.е. в 2 первых и в 2 последних месяцах года. А частота развития ИИ достоверно выше в первой половине года - с января по июнь ($p < 0,05$).

Имеются сезонные колебания не только частоты развития инсультов, но и частоты развития осложнений, а также летальности от МИ (рис.).

Таблица. 1. Распределение геморрагических и ишемических инсультов и их соотношение в различные месяцы

Месяцы	ГИ	ИИ	ГИ:ИИ
Январь	43	162	0,27
Февраль	33	137	0,24
Март	25	166	0,15
Апрель	25	168	0,18
Май	22	175	0,13
Июнь	22	155	0,14
Июль	19	136	0,14
Август	19	149	0,13
Сентябрь	19	124	0,15
Октябрь	22	129	0,17
Ноябрь	39	117	0,33
Декабрь	25	71	0,28
Всего	313	1689	0,19
Коэффициент вариации	31,70%	21%	

Примечание. Обозначения аббревиатур здесь и в табл. 2 см. в тексте.

Наименее благоприятно (высокая летальность, большое количество тяжелых осложнений) протекают МИ в холодное время года - январь, февраль, ноябрь, декабрь ($p < 0,05$), наименьшая летальность - август, сентябрь, октябрь ($p < 0,05$). Это совпадает с имеющимися в литературе данными [12, 13].

По мнению Hildebrandt [7], большинство максимальных и минимальных сезонных ритмов приходится на февраль и август, т.е. биологический год делится на 2 половины, в пределах которых направление фаз годовых биоритмов взаимно противоположны: биологическая весна характеризуется быстрым нарастанием жизненной активности и интенсивности обеспечивающих ее процессов, а биологическая осень - противоположными тенденциями [2, 6].

Учитывая, что различные отделы мозга имеют разную резистентность к воздействию неблагоприятных факторов, в табл. 2 мы представили распределение по месяцам МИ разной локализации с указанием их процента от общегодового числа и коэффициента вариации.

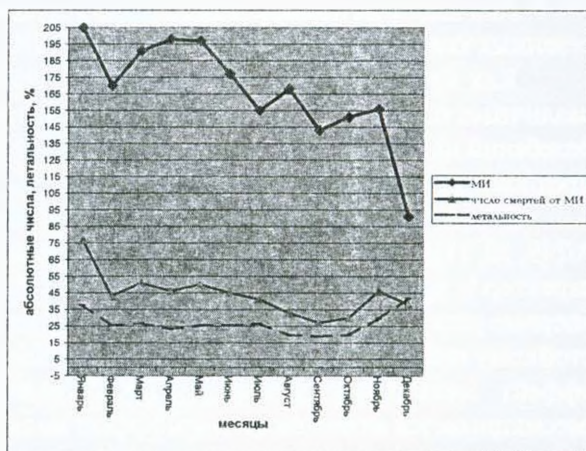


Рис. Распределение МИ, смертельных исходов и летальность по месяцам.

Таблица 2. Распределение разной локализации МИ по месяцам

	Абсолютное число случаев по месяцам				% от годового числа			
	ППИ	ЛПИ	ВБИ	МИ	ППИ	ЛПИ	ВБИ	МИ
Январь	61	114	30	205	9,2	12,2	7,4	10,2
Февраль	56	87	27	170	8,4	9,3	6,7	8,5
Март	61	90	40	191	9,2	9,6	9,9	9,5
Апрель	58	103	37	198	8,7	11,0	9,2	9,9
Май	58	87	52	197	8,7	9,3	12,9	9,8
Июнь	59	77	41	177	8,9	8,2	10,1	8,8
Июль	57	61	37	155	8,6	6,5	9,2	7,7
Август	63	71	34	168	9,5	7,6	8,4	8,4
Сентябрь	52	60	31	143	7,8	6,4	7,7	7,1
Октябрь	52	67	32	151	7,8	7,2	7,9	7,5
Ноябрь	56	70	30	156	8,4	7,5	7,4	7,8
Декабрь	31	47	13	91	4,7	5,0	3,2	4,5
Всего	664	934	404	2002	100,0	100,0	100,0	100,0
Коэффициент вариации	15,1	24,6	27,8	18,8				

Как видно из приведенных в табл. 2 данных, максимально зависимы от сезонных колебаний ВБИ, минимально - ППИ.

Как известно, МИ является гетерогенным заболеванием, имеющим различные этиопатогенетические механизмы развития. Влияние сезонных колебаний на частоту развития инсульта и тяжесть его течения можно объяснить предположительно несколькими механизмами.

В анализируемой литературе имеются данные о регуляции мелатонином АД [9, 10, 11]. В основном работы исследователей носили экспериментальный характер и проводились на животных. В 1979 году Vaughan и соавторы [2] впервые установили, что удаление шишковидной железы у крыс приводит к стойкому повышению АД. В 1995 году Weekley описал вазодилатирующий эффект мелатонина на бронхопульмональной артерии [2]. В ряде работ рассматривается антиоксидантный эффект мелатонина как предотвращающий развитие атеросклеротического поражения сосудов. Кроме того, мелатонин обладает широким спектром активности, направленной против свободных радикалов, он может также уменьшать частоту аритмии регулированием уровня внутриклеточного кальция, предотвращая кальциевую перегрузку, или из-за своей способности подавлять симпатическую нервную систему и уменьшать активность адренергических эффектов в миокарде [6].

Полученные данные носят в большинстве случаев экспериментальный характер и требуют подтверждения и дальнейшего изучения у больных с сердечно-сосудистыми, в частности цереброваскулярными заболеваниями.

Исследование хронобиологических аспектов цереброваскулярных заболеваний может открыть новые направления в профилактике и лечении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биленко Н.П. Клин. медицина, 81, 6, 19-23, 2003.
2. Дизрегуляторная хронопатология. Под ред. Г. И. Крыжановского, М., Медицина, 157-2153, 2002.
3. Левенков Н.В. В кн.: Биологические ритмы. 51-52, Горький, 1970.
4. Малиновская Н.К. Клин. медицина, 10, 15-22, 1997.
5. Рапопорт С.И., Большакова Т.Д., Малиновская Н.К. и др. Биофизика, 43 (4), 632-639, 1998.
6. Рапопорт С.И., Шаталова А.М. Клин. медицина, 6, с.4, 2001.
7. Хронология и хрономедицина. М., Триада X, 188с., 2000.
8. Чазов Е.И., Исаченков В.А. Эпифизм: место и роль в системе нейроэндокринной регуляции. М., Медицина, 1978.
9. Forsling M.L., Stoughton R., Foucart S. et al. J.Pineal Res. 14, 45-51, 1993.
10. Forsling M.L., Stoughton R., Kelestimur H. et al. J. Pineal Res. 20, 211-216, 1996.
11. Morgan L., Arendt J., Owens D. et al. J.Endocrinol. 157 (3), 443-451, 1998.
12. Muller J.E., Tofler G.H., Stone P.H. Circulation. 79, 733-743, 1989.
13. Pevet P. Therapie. 53 (5), 411-420, 1998.
14. Sharovsky Rodolfo, Cesar Luis Antonio Machado. Arg. bras. cardial. 78, 1, 106-109, 2002.

Поступила 27.VI.2003

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 612.85

ОТВЕТЫ НЕЙРОНОВ ОБЛАСТИ 216 КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КОШКИ НА ДВИЖУЩИЕСЯ ЗРИТЕЛЬНЫЕ СТИМУЛЫ

Д.К. ХАЧВАНКЯН, А.А. ЭКИМЯН, Л.В. МАРТИРОСЯН, К.Э. ПОГОСЯН,
Б.А. АРУТЮНЯН-КОЗАК

Институт прикладных проблем физики НАН Арме-ии, 375014, Ереван

На кошках с претригеминальным сечением ствола мозга были исследованы особенности зрительно-чувствительных нейронов экстрастриарной ассоциативной области 216 коры. Подробно были изучены ответы 176 нейронов на зрительные раздражения и определены расположения рецептивных полей (РП) в зрительных координатах. Опыты показали, что РП большинства нейронов области 216 расположены в верхнем контралатеральном квадранте поля зрения. Примерно 62% изученных нейронов не реагировали на изменение контраста зрительного стимула, тогда как 38% нейронов дифференцировали контраст зрительного стимула, а 39% реагировали на направление движения. Представленные данные подтверждают положение, согласно которому область 216 коры, наряду с другими корковыми центрами, вовлечена в центральный анализ зрительной информации.

Գլխուղեղի բնի պրետրիգեմինալ հատումով կատուների մոտ ուսումնասիրվել են կեղևային արտաստրիար ասոցիատիվ 21բ դաշտի տեսագրայուն նեյրոնների բնութագրերը: Մանրամասն ուսումնասիրվել են 176 նեյրոնների պատասխանները տարբեր գրգռիչներին և նրանց ընկալման դաշտերի տեղադրությունը տեսողական կոորդինատներում: Փորձերը ցույց են տվել, որ 21 բ դաշտի տեսողական դաշտերի ճնշող մեծամասնությունը գտնվում է տեսադաշտի վերին կոնտրալատերալ քառակուսում: Հետազոտված նեյրոնների մոտ 62 % նույնատիպ են պատասխանում տեսողական գրգռիչի տարբեր կոնտրաստներին, իսկ 38% ցուցաբերում են դիֆերենցված պատասխաններ կոնտրաստի փոփոխությանը: Բացի դրանից նեյրոնների 39% օժտված է շարժման ուղղությունը տարբերելու հատկությամբ: Ներկայացված տվյալները հաստատում են այն դրույթը, որ գլխուղեղի 21բ դաշտը, այլ կեղևային կենտրոնների հետ միասին, ընդգրկված է տեսողական ինֆորմացիայի մշակման կենտրոնական պրոցեսներում:

On cats with pretrigeminal brain-stem section the properties of visually sensitive neurones in area 21b of the cortex were investigated. Responses of 176 neurones to visual stimulation were investigated in detail and the localization of their receptive fields (RF) in visual coordinates were determined. Results of the experiments show that almost all RFs of investigated neurones are located on the upper contralateral quadrant of the visual field. About 62% of neurones responded equally to different contrasts of visual stimuli and 38% responded differently, discriminating the contrasts of stimuli. About 39% of neurones in area 21b are direction sensitive. Thus, the presented data confirm the suggestion that area 21b of cat's cortex is an organized visual center involved in the central processing of visual information.

Нейрон - рецептивное поле - экстрастриарная область

Зрительная сенсорная информация из сетчатки достигает коры головного мозга несколькими параллельными путями, проходя через подкорковые зрительные центры [2, 10, 13]. В результате в коре присутствует множество

отдельных корковых областей (примерно 17), вовлеченных в процесс центрального анализа зрительной информации. Среди корковых зрительно-чувствительных структур наиболее исследованными являются первичная зрительная кора (поле 17) и перистриарные зрительные области коры [3-5]. Исследования последних лет показывают, что экстрастриарные зрительно-чувствительные области коры обладают высокой степенью визуотопической организации [2, 7, 8, 10, 14]. Дальнейшие исследования выявили присутствие в экстрастриарных областях коры нейронов, специфически реагирующих на зрительные раздражения [11, 12, 15]. В связи с этим, возникает естественный вопрос о функциональном значении отдельных корковых областей в процессах анализа зрительной информации на уровне коры головного мозга. В этом отношении до настоящего времени наименее исследованной остается область 216 коры, которая расположена на задней супрасильвиевой области коры и граничит с областями 20а и 21а и перистриарной зрительной областью 19. Таким образом, исследование особенностей зрительно-чувствительных нейронов области 216 представляет определённый интерес для выяснения её функционального значения в анализе зрительной сенсорной информации на уровне коры головного мозга. Настоящая работа представляет результаты наших исследований, посвященных изучению особенностей отдельных зрительно-чувствительных нейронов области 216 зрительной коры.

Материал и методика. Опыты проводили на кошках массой 2,5 - 3,5 кг. Начальные хирургические процедуры - трахеотомия, введение канюли в бедренную артерию и претригеминальное сечение ствола мозга проводили под эфирным наркозом. В некоторых случаях дополнительно вводили малые дозы хлоралозы (10 мг/кг) для полного обезболивания. Голову животного фиксировали в модифицированном стереотаксическом аппарате для исследований зрительной системы. Участок черепной кости размером 8x10 мм вместе с твердой мозговой оболочкой удаляли над задней супрасильвиевой и эктосильвиевой извилинами коры, затем костное окно заливали 4%-ным раствором агара. Животных обездвигивали внутримышечным введением миорелаксанта дитилина (дифенилди-дихолин эфира сукциновой кислоты, по 7 мг/кг). Частота искусственного дыхания составляла 19/мин, объём вдоха - 20 мл/кг. Температуру тела поддерживали в пределах 38,0 - 38,5° при помощи согревающего пледа. Зрачки расширялись закапыванием в глаз 0,1%-ного атропина. Роговицы защищали от высыхания контактными линзами с диоптрической силой "0". Артериальное давление поддерживали на уровне 90-100 мм рт.ст., периодически регистрировали ЭЭГ и ЭКГ. Активность одиночных нейронов регистрировали спустя 2-3 ч после прекращения эфирного наркоза. Использовали вольфрамовые микроэлектроды с диаметром кончика 2-5 мкм. Активность нейронов регистрировали и анализировали при помощи анализатора (АНОПС - 101), используя программу построения постстимульных гистограмм. Эпоха анализа составляла 2 сек, ширина бина 4,0 мсек. Обычно анализировали данные 16 реализаций. Рецептивные поля (РП) нейронов определяли на вогнутом экране периметра, который мог перемещаться, перекрывая все поле зрения. Экран периметра находился на расстоянии 1 м от нодальных точек глаза. Расположение *area centralis* определяли по методу Фернальда и Чейза [1]. Зрительную стимуляцию осуществляли с помощью предъявления стационарных и движущихся тёмных и светлых стимулов разных форм и величин. Освещённость светлых стимулов составляла 8 лк на фоне 2 лк, тёмных - 2 лк на фоне 8 лк. Таким образом, контраст стимула относительно фона был постоянным во всех опытах.

Результаты и обсуждение. Подробно изучены ответы 176 зрительно-чувствительных нейронов области 216 коры головного мозга. Для каждого зрительно-чувствительного нейрона определяли размеры и точное

расположение его РП в зрительных координатах поля зрения. Опыты показали, что РП большинства исследованных нейронов расположены в верхнем контралатеральном квадранте поля зрения. Определение величин РП нейронов показало, что в области 216 коры преобладают РП относительно больших размеров (от 10 до 200 гр²) по сравнению с таковыми первичной зрительной коры, где, согласно данным Хьюбела и Визела [4], размеры большинства РП находятся в пределах 5 - 10 гр².

Подробно были исследованы также динамические характеристики зрительно-чувствительных нейронов области 216. Большинство изученных нейронов отвечало равным количеством разрядов на два противоположных направления движения зрительного стимула (пятна и полосы) вдоль горизонтальной оси РП, т.е. проявляло недирекциональные ответы. Эти нейроны были включены в группу недирекциональных нейронов. Примерно 61% их из всех исследованных имели такие характеристики. Наряду с этим были обнаружены и такие, которые интенсивно реагировали на одно направление движения (предпочитаемое направление) и тормозили активность при противоположном направлении движения по РП (нулевое направление), таким образом проявляя специализированный ответ на направление движения. Дирекционально-чувствительные нейроны составили примерно 35% из числа изученных.

Более подробное изучение особенностей дирекционально-чувствительных нейронов выявило интересный факт, а именно 72% нейронов имели ответы с предпочитаемым направлением слева направо (при исследовании правого глаза), т.е. нейроны интенсивно реагировали на направление выхода зрительного стимула из поля зрения, и только 28% интенсивнее реагировали на направление движения справа - налево, т.е. на вхождение зрительного стимула в поле зрения.

Сравнительное изучение реакций нейронов на изменение контраста зрительного стимула (темные и светлые движущиеся стимулы) показало, что большинство (62%) отвечает примерно равной интенсивностью на темные и светлые стимулы, т.е. не отличает контраст предъявленного стимула. На рис. 1 представлены ответы одного из таких нейронов. Как видно из рис., нейрон отвечает почти

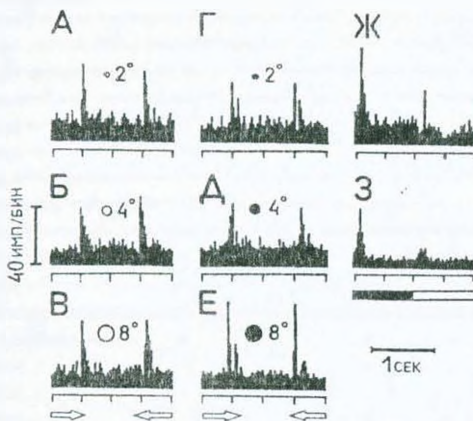


Рис. 1. Ответы нейрона области 216 на движение светлых и темных зрительных стимулов. А-В - ПСТГ ответов нейрона на движение светлых стимулов разных величин (2°, 4°, 8° соответственно) по горизонтальной оси РП. Д-Е - ПСТГ ответов того же нейрона на движение через его РП темных стимулов разных величин (2°, 4°, 8° соответственно). Ж, З - ПСТГ ответов того же нейрона на стационарно мерцающее пятно (1°), расположенное в РП.

По оси абсцисс - время раздражения (2 с), по оси ординат - число импульсов в бине. Стрелки указывают направление движения, темная полоса обозначает фазу темноты, светлая - фазу света. Для остальных рисунков объяснения те же.

равным количеством разрядов на движение по его РП как светлых стимулов разной величины (рис. 1 А - В), так и тёмных (рис. 1 Г - Е). РП данного нейрона имело гомогенную структуру с оп-офф ответами по всей поверхности (Ж, З). Однако примерно у 38% изученных нейронов ответы на светлый или тёмный движущиеся стимулы существенно отличались друг от друга, т.е. эти нейроны отличали контраст зрительного стимула. Например, нейрон, ответы которого представлены на рис. 2, проявляет четкий тормозной компонент на движение тёмного стимула 19° вдоль горизонтальной оси РП (рис. 2 Г), тогда как светлый стимул при тех же условиях вызывает разряды клетки без тормозного компонента (рис. 2 В).

В ответах этого нейрона на светлый и темный стимулы величиной 6° тормозные компоненты не наблюдались (рис. 2 А, Б). РП этого нейрона имело малые размеры (1° x 1°) и стационарно мерцающее пятно (1°), расположенное в центре РП, вызывало оп-тонический ответ клетки (рис. 2 Д). Наряду с этим, были обнаружены нейроны, которые реагировали только на один контраст примененного зрительного стимула, как, например, нейрон, представленный на рис. 3. Как видно из рис., нейрон отвечает залпом спайков на движение по его РП светлой полосы (рис. 3 А), тогда как на движение тёмной полосы он вообще не реагирует (рис. 3 Б). Эти данные позволяют предполагать, что зрительно-чувствительные нейроны могут обладать несколькими механизмами, осуществляющими дифференциацию контраста зрительного раздражения. Около 12% исследованных нейронов имели подобные характеристики. Изучение подробной структуры РП этого нейрона показало, что оно состоит из оп-тонического центра, окруженного офф-фазическими ответами (рис. 3 В 1 - 5), т.е. РП является гетерогенным.

Таким образом, представленные в настоящей работе результаты опытов подтверждают данные ряда авторов [6, 7, 9, 11, 13, 14], согласно которым экстрастриарная ассоциативная область 216 имеет четкую визуотопическую организацию, где главным образом представлен верхний контралатеральный

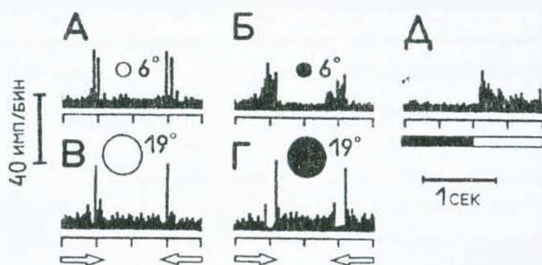


Рис. 2. Ответы нейрона области 216, отличающего контраст движущегося зрительного стимула. А, Б - ПСТГ ответов на светлые движущиеся стимулы разных величин (6° и 19°) вдоль горизонтальной оси РП. В, Г - ПСТГ ответов нейрона на движение темных стимулов (6° и 19°). Д - ПСТГ ответов на стационарно мерцающее пятно (20°). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

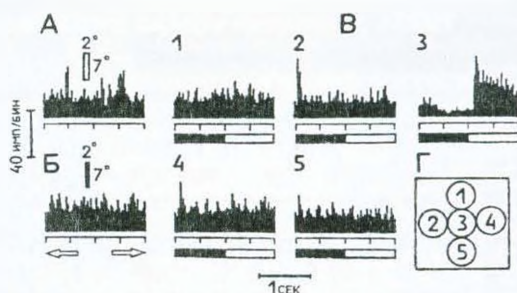


Рис. 3. Ответы светлочувствительного нейрона на движущиеся стимулы и организация его РП. А, Б - ПСТГ ответов нейрона на движение через его РП светлой (А) и темной (Б) полос величиной 7° x 2°. В 1-5 - ПСТГ ответов того же нейрона на стационарно мерцающее светлое пятно, расположенное в тест-зонах РП. Г - схематическое изображение РП, цифры обозначают тест-зоны. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

квадрант поля зрения. Далее, присутствие в области 21б нейронов с высокой специализацией реагирования на определённое направление движения (дирекциональные нейроны), которое отмечает также Тардиф и соавт. [11], а также нейронов, дифференцирующих контраст зрительных стимулов в поле зрения, указывает на то, что нейроны области 21б играют определённую и существенную роль в процессах центрального анализа зрительной сенсорной информации.

Представленные данные в определённой степени подтверждают положение, выдвинутое рядом авторов [6, 8, 11, 13] об области 21б коры, как зрительного центра, отличающегося от других зрительных областей коры не только ретинотопической организацией, но и особенностями специализированных реакций нейронов на зрительные стимулы, являясь таким образом одним из важнейших корковых звеньев в процессах центрального анализа зрительной информации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fernald D.A., Chase R. Vision Res., 11, 1, 95-96, 1971.
2. Heath C.J., Jones E.G. Ergebn. Anat. Entwickl., 45, 1, 1-64, 1971.
3. Henry G.H. Brain Res., 133, 1, 1-28, 1977.
4. Hubel D.H., Wiesel T.N. J. Physiol., 160, 1, 106-154, 1962.
5. Ikeda H.A., Wright M.J. Exp. Brain Res., 22, 4, 363-383, 1975.
6. Markuszka J. Exptl. Neurol., 59, 1, 146-161, 1978.
7. Palmer L.A., Rosenquist A.C., Tusa R.J. J. Comp. Neurol., 177, 2, 237-256, 1978.
8. Spear P.D. In Neural Basis of Visual Function, London, 4, 339-370, 1991.
9. Sprague J.M., Levy J., Di Berardino A., Berlucchi G. J. Comp. Neurol., 172, 3, 441-488, 1977.
10. Symonds L.L., Rosenquist A.C. J. Comp. Neurol., 253, 1, 105-120, 1986.
11. Tardiff E., Lepore F., Guillement J.P. Neuroscience, 97, 4, 625-634, 2000.
12. Toyama K., Mizobe K., Alkase E., Kaihama T. Exp. Brain Res., 99, 2, 289-301, 1994.
13. Tusa R.J., Palmer L.A. J. Comp. Neurol., 193, 1, 147-164, 1980.
14. Updyke B.V. J. Comp. Neurol., 246, 2, 246-280, 1986.
15. Wimbome B.M., Henry G.H. J. Physiol., 449, 3, 457-478, 1992.

Поступила 31.11.2002

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 58.03:581.174:543.426

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ НЕКОТОРЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОМ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР И ВИДИМОГО СВЕТА

Дж.М. ДЖАВРШЯН, Л.С. ГАБРИЕЛЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375025

Исследовали влияние высокоинтенсивного видимого света на микроводоросли, предварительно подвергнутые действию различных температур. Последовательное действие температуры и видимого света вызывали падение показателя фотосинтетической активности F_m/F_t и рост нефотохимического тушения q_N , что свидетельствует о нарушении структуры фотосинтетического аппарата. Выявлено, что высокоинтенсивный свет усиливает повреждающий эффект теплового воздействия.

Ուսումնասիրվել է բարձր ինտենսիվությամբ տեսանելի լույսի ազդեցությունը միկրոօրգանիզմների վրա, որոնք նախապես ենթարկվել էին տարբեր ջերմաստիճանների ազդեցությանը: Ջերմաստիճանի և տեսանելի լույսի հաջորդական ազդեցությունը բերել է ֆոտոսինթետիկ ակտիվության ցուցանիշի F_m/F_t անկմանը և ոչ ֆոտոքիմիական մարման զործակցի q_N աճին, որոնք վկայում են ֆոտոսինթետիկ ապարատի կառուցվածքի վնասման մասին: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ բարձր ինտենսիվությամբ լույսը ուժեղացնում է ջերմության վնասարար ազդեցությունը:

The action of high-intensity visible light on microalgae preliminary subjected to action of various temperatures has been investigated. Consecutive action of temperature and visible light caused falling of a parameter of photosynthetic activity F_m/F_t and growth nonphotochemical quenching q_N , structures of the photosynthetic device testifying to infringement. The received results specify that high-intensity light strengthens damaging effect of thermal influence.

Микроводоросли - индукция флуоресценции

Исследование действия экстремальных температур и света на первичные процессы фотосинтеза представляет теоретический и практический интерес. Это обусловлено тем, что в природных условиях названные физические факторы играют наиболее важную роль в регуляции первичных процессов фотосинтеза [1, 2, 6, 10].

В частности, высокие температуры и свет высокой интенсивности вызывают ингибирование фотосинтеза главным образом за счет влияния на фотофизические и фотохимические процессы фотосинтеза [2, 6, 7, 9, 10]. С этой точки зрения большой интерес представляет последовательное действие повышенных температур и высокоинтенсивного видимого света на водоросли различных таксономических групп, что может быть причиной повреждения как фотосинтетического аппарата, так и объекта в целом. Интерес вызван

возможными взаимодействиями между этими факторами, приводящими к суммированию деструктивных процессов.

Целью настоящей работы было изучение действия видимого света высокой интенсивности на микроводоросли, предварительно подвергнутые действию различных температур, методом индукции флуоресценции хлорофилла.

Материал и методика. Эксперименты проводили на одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella pyrenoidosa* и цианобактерии *Spirulina platensis*. Хлореллу выращивали на стандартной для нее питательной среде Тамия, а спирулину — на среде Заррука при комнатной температуре (23–27°) и естественном освещении (500–800 лк). Для исследования последовательного действия температуры и видимого света водоросли, предварительно прогретые при определенной температуре (экспозиция – 15 мин), облучали видимым светом интенсивностью 46000 лк в течение 15 мин. Для тепловой обработки их помещали в термостат УТ-1 с водой разной температуры (25–55°). Для предварительного освещения водорослей использовали осветительную систему диапроектора „Связь“. Затем регистрировали медленную индукцию флуоресценции на флуориметре-фосфороскопе, разработанном проф. Джаврианом [5]. Повторность опытов при измерении медленной индукции флуоресценции не менее 5.

Результаты и обсуждение. Измерение индукционных кривых флуоресценции хлорофилла широко используется в исследованиях физиологического состояния фотосинтезирующих объектов и эффективности фотосинтеза [1, 3, 4, 8]. Из литературных данных известно, что в основе индукционных изменений флуоресценции лежат 2 механизма: окислительно-восстановительное превращение первичного акцептора электронов фотосистемы II (ФС II) QA и структурные изменения мембран тилакоидов [1].

В настоящей работе было исследовано действие высокоинтенсивного света на прогретые при различных температурах (25–55°) водоросли. При обработке кривых медленной индукции флуоресценции использовали отношение F_m/F_t , где F_m и F_t интенсивности флуоресценции в точках M и T соответственно, отражающее эффективность фотосинтеза [8], и коэффициент нефотохимического тушения (q_M), который определяли в соответствии с формулой: $q_N = (F_p - F_p')/F_p$, где F_p' — интенсивность флуоресценции полностью закрытых реакционных центров (РЦ) подвергнутых действию факторов объекта [2].

При действии различных экстремальных факторов в антенном комплексе и РЦ фотосинтетического аппарата происходит целый ряд процессов, вызывающих увеличение вероятности безызлучательной диссипации энергии возбужденных пигментов ФС II, т.е. нефотохимическое тушение возбужденных состояний хлорофилла [2, 9]. Оно может включать: 1) энергизационное тушение, обусловленное высоким значением концентрации протонов на тилакоидной мембране; 2) тушение вследствие перехода части светособирающего комплекса (ССК) от ФС II к ФС I и перераспределения энергии возбуждения между фотосистемами; 3) тушение в результате повреждения (окисления) самого РЦ ФС II [1, 2].

У хлореллы под действием света высокой интенсивности (46000 лк) наблюдается постепенное падение интенсивности флуоресценции на всей индукционной кривой (рис. 1а, кривые 2–5), а также суммирование эффектов,

вызываемых каждым из факторов в отдельности, которое выражается в падении первого максимума Р, постепенном исчезновении второго максимума М и росте стационарного уровня Т.

У спирулины действие света высокой интенсивности приводит к резкому падению интенсивности флуоресценции на всем PSMT участке (рис.1б, кривая 2), к исчезновению второго максимума М и замедлению тушения флуоресценции на участке М-Т. Действие света на прогретую при 35° и 45° спирулину приводит к росту интенсивности флуоресценции (по сравнению со спирулиной, подвергнутой действию только видимого света), что отражено в кривых 3 и 4 (рис.1б). При действии света на прогретую при 55° спирулину происходит падение интенсивности флуоресценции (рис.1б, кривая 5). Последовательное действие температуры и света также приводит к исчезновению пика М и замедлению тушения флуоресценции на М-Т участке.

На рис. 2 приведена зависимость отношения F_m/F_t от последовательного действия температуры и света у хлореллы (кривая 1) и спирулины (кривая 2). Отношение F_m/F_t у хлореллы падает параллельно действию факторов на 60%, у спирулины оно меняется менее резко - приблизительно на 15%.

Изменения коэффициента нефотохимического тушения q_N у хлореллы и у спирулины приведены в табл. I. И у хлореллы, и у спирулины наблюдается рост q_N

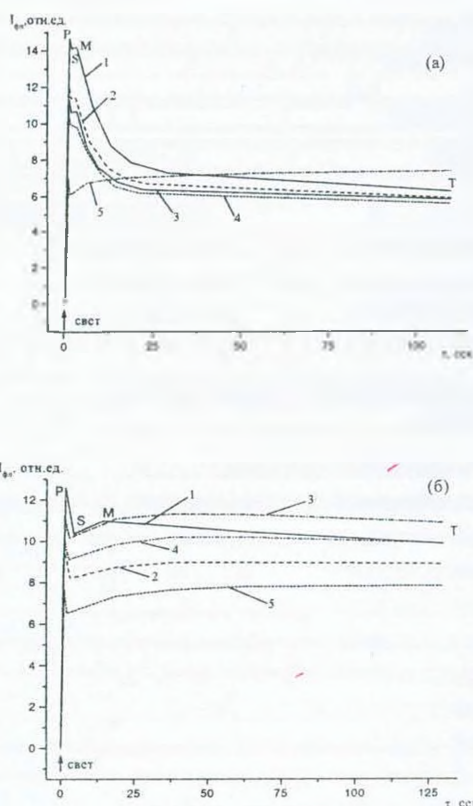


Рис. 1. Кривые индукции флуоресценции хлореллы (а) и спирулины (б) при последовательном действии температуры и видимого света: 1 - контроль (25000); 2 - контроль, подвергнутый действию видимого света интенсивностью 46000 лк; 3-5 - объекты, подвергнутые последовательному действию температур 35, 45 и 55°, соответственно, и света интенсивностью 46000 лк.

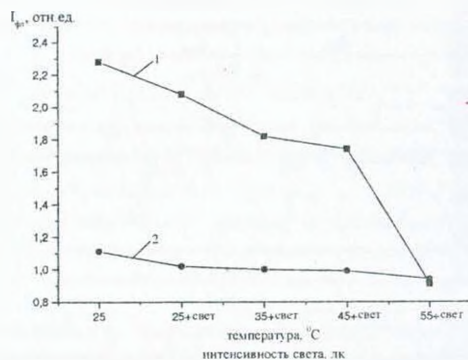


Рис. 2. Зависимость отношений параметров F_m/F_t от последовательного действия температуры (25-55°) и видимого света (46000 лк) у: 1 - хлореллы; 2 - спирулины.

на 52 и 39 % соответственно.

Таблица 1. Зависимость нефотохимического тушения (qN) от последовательного действия температуры и видимого света у хлореллы и спирулины

Температура прогрева, °C + свет (46000лк)	qN (хлорелла)	qN (спирулина)
Контроль (25°)	0	0
25° + свет	0.18±0.05	0.23±0.06
35° + свет	0.23±0.07	0.11±0.05
45° + свет	0.28±0.08	0.2±0.05
55° + свет	0.52±0.1	0.39±0.09

Последовательное действие температуры и видимого света вызывали падение показателя фотосинтетической активности F_m/F_t и рост нефотохимического тушения qN, что свидетельствует о нарушении структуры фотосинтетического аппарата. Таким образом, высокоинтенсивный свет усиливает повреждающий эффект теплового воздействия. Из полученных нами ранее данных известно, что температурное воздействие приводит к повреждению мембранных комплексов и, в первую очередь, белков реакционных центров [4]. А при облучении клеток водорослей высокоинтенсивным видимым светом, по-видимому, происходят нарушения фотосинтетического аппарата, включающие повреждения не только белков, но и липидов и пигментов реакционных центров [2, 6]. Эти нарушения, вероятно, и вызывают потерю фотосинтетической активности клеток водорослей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. М.: "Наука", 200 с, 1990.
2. Воронова Е.Н. и др. Физиология растений, 49, 3, 350-358, 2002.
3. Габриелян Л.С., Джавршян Дж.М. Мат-лы 7-й Пушкинской конф. молодых ученых: "Биология - наука XXI века". 56-57, Пушкино, 2003.
4. Джавршян Дж. М., Габриелян Л. С. Мат-лы III респ. молодежной конф.: "XXI век: экологическая наука в Армении". Ереван, 80-85, 2002.
5. Джавршян Дж.М. Автореф. док. дисс., Минск.
6. Егорова Е.А., Бухов Н.Г. Физиология растений, 49, 5, 645-655, 2002.
7. Кафаров Р. и др. Физиология растений, 35, 3, 458-463, 1988.
8. Москвин О.В. и др. Физиология растений. 45, 3, 413-418, 1998.
9. Hideg E., Murata N. Plant Sci. 130, 151-158, 1997.
10. Inoue N. et al. Plant Cell Physiol. 42 (10), 1140-1148, 2001.

Поступила 11.VIII.2003

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 581.573.6

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА КЛЕТОК *CHLORELLA VULGARIS*

А.Н. ЗАКАРЯН, Ш.А. МАРКАРЯН, М.К. ВАРТАНЯН, Г.А. ПАРСАДАНЯН,
К.В. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра экологии и охраны природы,
кафедра физической химии, 375025

Исследовалось действие диметилсульфоксида (ДМСО) на численность клеток, содержание в них хлорофилла "а" и скорость роста культуры *Chlorella vulgaris* при различной концентрации питательного раствора (100%, 50%). Выявлено, что 0,5- и 0,1%-ные растворы ДМСО стимулировали и повышали скорость роста хлореллы. Характер воздействия ДМСО в этом диапазоне концентраций зависел от уровня фонового раствора. Повышение дозы 5%- и 1%-ных растворов ДМСО подавляли рост хлореллы, ингибировали синтез хлорофилла "а", понижали скорость роста культуры независимо от уровня концентрации питательного раствора. Полученные результаты позволяют сделать предположение о комплексном воздействии ДМСО, включающем усиление эффективности использования питательных элементов при низких концентрациях ДМСО и подавление синтеза хлорофилла "а" вплоть до его деградации при сравнительно высоких концентрациях.

Դետազոտվել է դիմեթիլսուլֆօքսիդի (ԴՄՍՕ) ազդեցությունը բջիջների քանակության վրա, նրանցում քլորոֆիլ "ա"-ի պարունակությունը և *Chlorella vulgaris* կուլտուրայի աճի արագությունը սննդարար լուծույթի տարբեր խտությունների ազդեցության ներքո (100%, 50%): Բացահայտվել է, որ 0,5 և 0,1 % ԴՄՍՕ-ի լուծույթը նպաստում է քլորելայի աճի արագության բարձրացմանը: ԴՄՍՕ-ի ազդեցության բնույթը խտությունների այս միջակայքում կախված է ֆոնային լուծույթի մակարդակից: 5 և 1%-անոց ԴՄՍՕ-ի լուծույթի քանակության ավելացումը ճնշում է քլորելայի աճը, քլորոֆիլ "ա"-ի (5%) սինթեզը, նվազեցնում կուլտուրայի աճի արագությունը, որը կախված չէ սննդարար լուծույթի խտությունից: Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս ենթադրել ԴՄՍՕ-ի համալիր ազդեցության մասին, որն ընդգրկում է սննդարար տարրերի կիրառման էֆեկտիվության բարձրացումը՝ ԴՄՍՕ-ի ցածր խտությունների դեպքում, ինչպես նաև քլորոֆիլ "ա"-ի սինթեզի ճնշումը՝ ընդհուպ մինչև նրա քայքայումը՝ համեմատաբար բարձր խտությունների դեպքում:

Effect of dimethylsulfoxide (DMSO) on the growth and content of chlorophyll "a" in the cells of *Chlorella vulgaris* nutrients (100%, 50%). Application of DMSO in low concentrations 0,5—0,1% stimulates growth of chlorellas culture and increase speed of growth. The effect of DMSO in this rate of concentrations depends on the level of nutrient solution. The DMSO in concentration 5 and 1% inhibiting growth of chlorella, formation of chlorophyll "a" (5%) and decreasing the growth speed, independently of concentration level of nutrient solution. The results of our experiments allow to predict complex effect of DMSO, including influence on effective using of nutritions with low concentrations and inhibiting effect of comparatively high concentrations on the content of chlorophyll "a".

Chlorella - диметилсульфоксид - численность клеток — хлорофилл —
скорость роста клеток

Многими авторами установлено влияние ДМСО на обменные процессы в растениях, в частности на белковый обмен [5], формирование хлорофилла [14], уровень эндогенных гормонов [15]. Известно действие ДМСО на транспортные свойства мембран, поглощение микроэлементов, интенсивность окислительных процессов, рост и развитие растений и т.д. [1, 9]. Выявлено, что влияние ДМСО на растения зависит от его концентрации, а также от вида растения, фазы развития [5, 6] .

В некоторых работах представлен механизм действия ДМСО на молекулярном, органном, организменном, а в последние годы и экосистемном уровнях [3, 13]. Многочисленны исследования роли и действия ДМСО в прокариотических организмах: бактериях и цианобактериях [11, 12]. Однако, по нашим данным, литературных сообщений о влиянии ДМСО на рост и развитие культуры одноклеточных зеленых водорослей нет.

В нашей работе объектом исследования являлась одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*, выбор которой не случаен и имеет несколько аспектов: исследование влияния ДМСО на одноклеточную хлореллу позволит выявить определенные закономерности его воздействия на растения на клеточно-организменном уровне; в случае положительного эффекта ДМСО определенных концентраций на показатели роста хлореллы, его применение при выращивании хлореллы в больших масштабах будет иметь экономический и экологический эффект.

Материал и методика. В качестве объекта исследования использовали культуру *C. vulgaris*. Суспензию клеток выращивали в стеклянных культиваторах при обычном освещении и температуре 20°-22°, с продуванием воздуха (0,03 СО). В каждом эксперименте во все варианты культуральной среды вносили одинаковое количество посевного материала. Для выращивания водорослей использовали питательную среду Тамия полной и половинной концентрации. ДМСО добавляли в среду перед посевом в концентрациях 5; 1; 0,5; 0,1; 0,05; 0,01 %. Контролем служили водоросли, выращиваемые на среде Тамия полной и половинной концентрации. Об интенсивности роста хлореллы судили по численности клеток, определяемых методом прямого подсчета в камере Горяева. Содержание хлорофилла "а" определяли спектрофотометрически [2]. Статистическую обработку материала проводили с определением стандартной ошибки. Длительность наблюдений составила 20 суток.

Результаты и обсуждение. Исследовалось влияние добавок различных доз ДМСО на численность клеток хлореллы и содержание в них хлорофилла "а", при выращивании на растворе Тамия полной и половинной концентрации. Увеличение дозы ДМСО до 1 и 5%, независимо от концентрации раствора Тамия, ингибировало рост хлореллы, что особо проявилось в фазе экспоненциального и линейного роста (рис.1, 2). При выращивании на полном растворе Тамия отставание в росте при воздействии ДМСО наблюдалось уже на 4-5 сутки при 5%-ной дозе и на 9-10 - при 1%-ной. При уменьшении концентрации солей питательного раствора в два раза наблюдалось отставание увеличения численности клеток хлореллы при вышеотмеченных концентрациях ДМСО в среднем на 2 дня. Снижение концентрации ДМСО до 0,5% стимулировало развитие культуры хлореллы. Стимулирующий эффект

ДМСО раньше проявляется при выращивании хлореллы на полном растворе Тамия. В фазе линейного роста, наоборот, отмечено более интенсивное развитие хлореллы на половинном питательном растворе. Понижение концентрации ДМСО до 0,05 — 0,01% достоверно не влияло на развитие культуры. К концу эксперимента наибольшая численность отмечена при первоначальных добавках ДМСО в дозе 0,5% на полном растворе Тамия и 0,5 и 0,1% - на половинном.

Высокая концентрация ДМСО отрицательно сказывалась и на содержании хлорофилла "а" (рис. 1). При 5%-ной дозе ДМСО на фоне стационарного состояния культуры отмечается понижение содержания хлорофилла "а". При понижении концентрации ДМСО до 0,5% наблюдается временное увеличение содержания хлорофилла "а" в фазе линейного роста. Во всех остальных вариантах содержание хлорофилла под воздействием ДМСО понижается.

Исследование из-

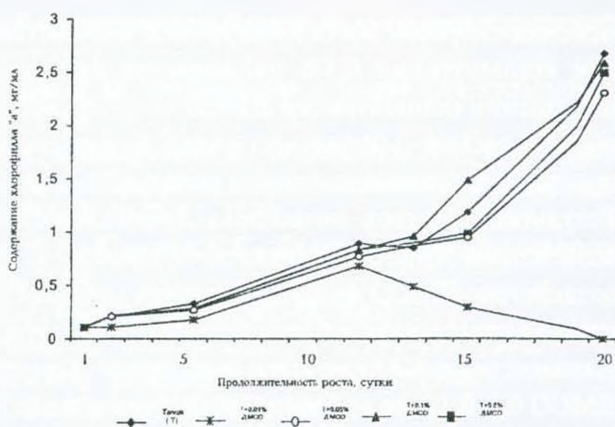


Рис. 1. Влияние ДМСО на содержание хлорофилла а в клетках хлореллы, выращенной на растворе Тамия.

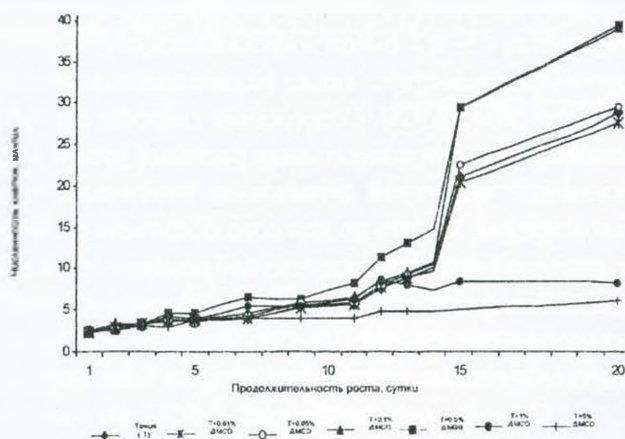


Рис. 2. Влияние ДМСО на динамику численности клеток культуры хлореллы, выращенной на растворе Тамия полной концентрации.

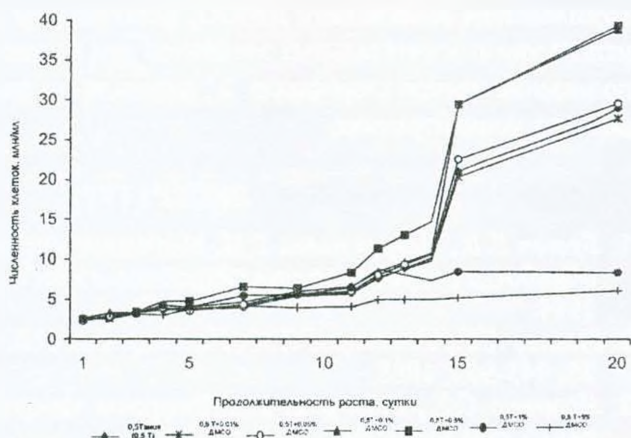


Рис. 3. Влияние ДМСО на динамику численности клеток культуры хлореллы, выращенной на растворе Тамия половинной концентрации.

менения скорости роста культур под воздействием ДМСО выявило, что при концентрации 0,5% наблюдается наибольшая скорость роста. При повышении концентрации ДМСО скорость роста культуры резко убывает, при понижении - убывает медленней. Более высокая скорость роста отмечена при культивировании на полном растворе Тамия по сравнению с половинными. Результаты опытов позволяют предположить о сложности механизма воздействия ДМСО на развитие хлореллы. С одной стороны, возможно воздействие ДМСО на проницаемость мембран и усиление эффективности использования питательных элементов. Об этом косвенно свидетельствует усиление развития культуры и повышение скорости роста при концентрациях ДМСО 0,5-0,1% во всех вариантах и увеличение численности хлореллы при действии ДМСО на варианты с половинной дозой питательного раствора Тамия (рис. 2,3). С другой стороны, ДМСО непосредственно инициирует процессы, останавливающие развитие культуры при высоких концентрациях. Так, в вариантах с 5- и 1%-ной ДМСО почти отсутствует фаза линейного роста. Об этом свидетельствует также резкое понижение содержания хлорофилла при 5%-ной дозе ДМСО. Содержание хлорофилла поддерживается на некотором постоянном для данного вида растения уровне [4]. Однако под воздействием внешних факторов возможны значительные изменения содержания хлорофилла, вплоть до полного обесцвечивания клеток [8]. В большинстве случаев авторы полагают, что наблюдаемое выцветание хлорофилла является следствием нарушения функционирования электронно-транспортной цепи хлоропластов [7, 10]. При 5 %-ной дозе ДМСО, начиная с 12-х суток, наблюдается выцветание культуры на фоне постоянной численности клеток.

Суммарное воздействие ДМСО на рост хлореллы можно отнести к „медленным“ его реакциям, поскольку достоверное различие с контролем проявилось через несколько дней после эксперимента.

Полученные результаты позволяют сделать предположение о комплексном воздействии ДМСО, включающем усиление эффективности использования питательных элементов при низких концентрациях ДМСО и подавление синтеза хлорофилла „а“, вплоть до его деградации при сравнительно высоких концентрациях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бульон В.В., Лаврентьева Г.М. Методические рекомендации по сбору и обработке результатов при гидробиологических исследованиях. Л., 32с, 1984.
2. Гуськов А.В., Тихомиров И.А., Поликарпова Ф.Я. Физиология растений, 5, 35, 945-954, 1988.
3. Иоценко С.Е., Войтенко В.С. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечеб. физ.культуры, 2, 62-64, 1990.
4. Канделинская О.Л. Автореф. канд. дисс. 23с, М., 1989.

5. Ковтун М.Е., Калитка Б.В. Физиология и биохимия культурных растений, 29, 5, 389-393, 1997.
6. Поповичева Л.А., Градзински Д.М. Физиология и биохимия культурных растений. 17, 6, 601-605, 1985.
7. Чемерис Ю.К., Попова А.В., Шендерова Л.В., Венедиктов П.С. Изменение фотосинтетического аппарата хлореллы в процессе азотного голодания. Рукопись деп. в ВИНТИ. N 6942-83, 1983.
8. Ясюкова Т.Б., Калинкина Л.Г., Куркова Е.Б., Балнокин Ю.В. Физиология растений, 46, 1, 124-131, 1999.
9. Ashwood-Smith M.J. Int. J. Radiat. Biol. 3, 41-48, 1961.
10. Bajaj V., Rathore V., Wittwer S. Amer. J. Bot. 57, 7, 794-799, 1970.
11. Barabas K., Laszko J. Bioenerg. Biomembr. 17, 123-134, 1985.
12. Estes G. Diss. Abstr. Int. B. 30, 5, 1988-1989, 1969.
13. Griebler C. J. Microbiol. Menth. 29, 7, 31-40, 1997.
14. Kolupaev Yu.E. Ann. symp. "Phys-Chem.Basis Plant Physiol". Pushchino, Abstr. 99p, 1996.
15. Rammler D., Zafforony A. Ann. New York Acad. Sci. 141, 11, 1527-1537, 1967.

Поступила 04.IX.2003

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 591.1.05

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЭФФЕКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ

М.С. МАРТИРОСЯН, А.Х. АГАДЖАНЫН, А.А. АГАДЖАНЫН, Н.Т. ГУКАСЯН,
А.М. КАРАПЕТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Установлено стимулирующее влияние различных органических кислот и аминокислот на активность ферментов биосинтеза пролина у жуков фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say. Низкие концентрации цитрата и фумарата особенно сильно стимулируют процесс биосинтеза пролина. Изучено влияние окисленных нуклеотидов и цитрата на фракции гомогената жуков при высаливании сульфатом аммония. Установлено стимулирующее влияние гомогенатов стебельков и корешков гороха, снабжающих восстановленную форму НАДФН в качестве кофактора фермента пирролин-5-карбоксилат редуктазы (H5KP), на процесс биосинтеза пролина у фасолевой зерновки.

Ուսումնասիրվել է տարբեր օրգանական թթուների և ամինաթթուների խթանող ազդեցությունը պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների վրա լոբու ընդակերի բզեզներում *Acanthoscelides obtectus* Say. Զիտրատի և ֆումարաթթվի ցածր կոնցենտրացիաները խթանում են պրոլինի կենսասինթեզի պրոցեսը: Ուսումնասիրվել է օքսիդացված նուկլեոտիդների և ցիտրատի ազդեցությունը բզեզների հոմոգենատի ամոնիումի սուլֆատով հագեցված ֆրակցիաների վրա: Սահմանվել է ոլոռի ցողունիկների և արմատիկների հոմոգենատի խթանող ազդեցությունը պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների վրա լոբու ընդակերի բզեզների մոտ: Շնորհիվ նշված հոմոգենատների պենտոզաֆոսֆատային ցիկլի բարձր ակտիվության, պրոլինի կենսասինթեզը մատակարարվում է վերականգնված ՆԱՊՖՀ-ով, որը հանդիսանում է որպես պրոլին-5-կարբօքսիլատ ռեդուկտազի կոֆակտոր:

Stimulated influence of different organic acids and aminoacids on activity of enzymes of proline biosynthesis in haricot beetlefly *Acanthoscelides obtectus* Say has been determined. Low concentration of citrate and fumarate is strongly stimulated the process of proline biosynthesis. The influence of oxidized nucleotides and citrate on fraction of beetlefly homogenate, received by salted ammonium sulfate has been studied. Stimulated influence of homogenates of stems and rootlets, which provides with HADFH as cofactor for pyrroline-5-carboxylate reductase, on process of proline biosynthesis has been established.

*Пролин - орнитин - орнитинтрансаминаза - пирролин-5-карбоксилат -
фасолевая зерновка*

Орнитинтрансаминаза (ОТ) пекарских дрожжей, являющаяся одним из ферментов орнотинового пути биосинтеза пролина, была очищена в 10 раз с выходом фермента 7%, включая стадию очистки протаминсульфатом. Фермент оказался весьма нестабильным, и его активность слабо ингибировалась аминокислотами с разветвленной цепью [4]. Изучены свойства кристаллической ОТ из *Bacillus sphaericus* [5] с молекулярной массой 85000 дальтон по

седиментации и 8000 по гельфильтрации, состоящей из двух субъединиц с молекулярной массой 41000 дальтон и имеющей треониновый N-концевой остаток. Шионо с сотрудниками [6] из хрусталика глаза крыс была выделена и очищена почти до гомогенного состояния пирролин-5-карбоксилат редуктаза (П5КР), K_m относительно НАДН-0,62мМ и НАДФН-0,031мМ. Этот фермент состоит из восьми субъединиц, молекулярная масса каждой из которых составляет 30000.

Выявлены один изоэнзим ОТ и два изоэнзима П5КР в молочной железе крыс как у контрольных, так и у лактирующих. Получены ОТ и П5КР со степенью очистки 178 и 124 и с выходом ферментов 10 и 8,8% соответственно, с применением аффинной хроматографии на голубой сефарозе с последующей гельфильтрацией на сефадексе G-150 [2].

Выявлены по два изоэнзима ОТ на всех стадиях метаморфозы фасоловой зерновки, два изоэнзима П5КР у личинок и один - у куколок и жуков [1].

Осуществлена очистка ОТ и П5КР личинок и куколок фасоловой зерновки и получены ферменты со степенью очистки 333 и 291 и с выходом 57,9 и 57,0% у личинок и 100; 116 и 38,9; 36,2% у куколок соответственно [2].

В настоящем сообщении приводятся данные по регулированию активности ферментов биосинтеза пролина на различных стадиях метаморфозы фасоловой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say.

Материал и методика. Объектом исследования служили личинки и жуки фасоловой зерновки *A. obtectus* Say. Продолжительность развития яиц при 28° 7 дней. При этой температуре и 75%-ной влажности воздуха личиночная и кукольная стадии длятся 30 и 4-5 дней соответственно. Самка начинает откладывать яйца через 2-3 ч после выхода из куколки в течение 10-12 дней.

Активность ферментов биосинтеза пролина определяли в инкубационной среде, содержащей 50мкМ L-орнитина, 20мкМ α -кетоглутарата (α -КГ), 100мкМ калий-фосфатного буфера (рН 7,4), 1 мкМ пиридоксаль-5-фосфата и 0,5 мл гомогената. Инкубацию проводили при 37° в течение 1 ч. За это время орнитин среды под действием ОТ превращается в П5К. Затем в среду добавляли 4мкМ НАДН или НАДФН и 0,5 мл свежего гомогената, смесь инкубировали еще 15 мин. Под действием П5КР П5К превращается в пролин. Реакцию останавливали 20%-ной холодной ТХУ. Пробы центрифугировали при 8000 об/мин в течение 10 мин и определяли пролин химическим методом Блюменкранца [3].

Результаты и обсуждение. Нами изучено влияние различных субстратов и органических кислот на активность ферментов биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки. Полученные данные приведены в табл. 1.

Данные таблицы показывают, что цитрат почти в 10 раз (кофактор НАДФ⁺), а фумарат (кофактор НАД⁺) в 4 раза стимулируют активность ферментов биосинтеза пролина. С другой стороны, цитрат ингибирует активность ферментов, когда кофактором служит окисленный НАД. Витамин С, являясь акцептором электронов, конкурирует с окисленной формой НАДФ⁺ и ингибирует активность ферментов биосинтеза пролина более чем на половину.

Следующая серия экспериментов была посвящена изучению влияния некоторых органических кислот и аминокислот на ферменты биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки (табл. 2).

Таблица 1. Влияние субстратов и органических кислот на активность ферментов биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки, мкМ про на 1г ткани

Субстраты	Кофактор	Органические кислоты	Активность
L-орн	НАДФ ⁺	-	0,78±0,12
	НАДФ ⁺	цитрат	5,99±0,83
	НАДФ ⁺	фумарат	3,03±0,34
	НАД ⁺	-	2,02±0,24
	НАД ⁺	цитрат	1,12±0,13
	НАД ⁺	фумарат	2,81±0,31
	НАДФН	-	4,15±0,55
	НАДФН	цитрат	6,39±0,62
L-орн + α - КГ	НАДФ ⁺	-	2,13±0,25
	НАДФ ⁺	витамин С 5мкМ	1,57±0,16
		10мкМ	1.03±1,3

Таблица 2. Влияние органических кислот и аминокислот на ферменты биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки, мкМ про на 1г ткани

Варианты	НАДФ ⁺	НАДФН
L-орн + α - КГ	2,13±0,21	2,45±0,25
L-орн + α - КГ +	цитрат	3,81±0,34
	малсинат	1,29±0,12
	фумарат	0
	аспартат	3,96±0,34
	глутамат	4,46±0,41

Согласно таблице, изученные нами органические кислоты (за исключением фумарата и малеината) и аминокислоты усиливают процесс биосинтеза пролина как с кофактором НАДФ⁺, так и с НАДФН. Примечательно, что органические кислоты с двойными связями, особенно фумарат, сильнее стимулируют процесс биосинтеза пролина в присутствии окисленной НАДФ⁺, а с восстановленной формой НАДФН фумарат полностью подавляет процесс. Сравнительно сильное стимулирование биосинтеза пролина аспартатом и слабое глутаматом (с кофактором НАДФ⁺) можно объяснить трансаминированием аспартата с α - КГ, приводящим к образованию глутамата, который имеет преимущество над экзогенным глутаматом в глутаматдегидрогеназной реакции, снабжающей НАДФН и приводящей к усилению процесса биосинтеза пролина. Далее нами изучено влияние различных концентраций органических кислот на ферменты биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки (табл. 3).

Цитрат, особенно при низких концентрациях, усиливает процесс синтеза пролина.

Аналогичное влияние оказывает и фумарат. Малеиновая кислота же стимулирует процесс лишь при концентрации 1 мкМ, а при высоких концентрациях она полностью подавляет процесс биосинтеза пролина.

Таблица 3. Влияние различных концентраций органических кислот на ферменты биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки, мкМ про на 1г ткани (кофактор НАДФ⁺)

Органические кислоты	Концентрация, М	Активность
Без эффектора цитрат	-	2,12±0,28
	1·10 ⁻⁶	7,51±0,68
	5·10 ⁻⁶	7,82±0,70
	1·10 ⁻⁵	6,04±0,64
	2·10 ⁻⁵	3,84±0,37
	5·10 ⁻⁵	3,25±0,31
фумарат	1·10 ⁻⁶	6,86±0,66
	5·10 ⁻⁶	6,42±0
	1·10 ⁻⁵	5,63±0,55
	2·10 ⁻⁵	5,54±0,53
	5·10 ⁻⁵	4,71±0,45
малеинат	1·10 ⁻⁶	3,26±0,29
	5·10 ⁻⁶	0
	1·10 ⁻⁵	0
	2·10 ⁻⁵	0
	5·10 ⁻⁵	0

Нами изучено также влияние органических кислот на ферменты биосинтеза пролина в условиях, когда в качестве кетокислот выступали α-КГ и пируват (ПВ) (табл. 4).

Таблица 4. Влияние органических кислот на ферменты биосинтеза пролина у жуков фасоловой зерновки, мкМ про на 1г ткани

Варианты	Кофакторы	
	НАДФ ⁺	НАДФН
L-орн + α-КГ + цитрат	4,16±0,38	6,34±0,53
+ изоцитрат	4,53±0,41	-
+ фумарат	3,94±0,32	3,05±0,36
L-орн + ПВ + цитрат	3,84±0,34	3,86±0,38
+ изоцитрат	4,35±0,42	-
+ фумарат	1,72±0,14	1,56±0,13

Данные таблицы свидетельствуют о том, что изоцитрат, по сравнению с цитратом, стимулирует активность ферментов биосинтеза пролина, имеет преимущества при функционировании фермента как с α-КГ, так и с ПВ.

Осуществлено фракционирование ферментов биосинтеза пролина и изучено влияние окисленных нуклеотидов на их активность в осадке и надосадке, полученных при 30%-ном насыщении сульфатом аммония (табл. 5).

Очевидно, что при 30%-ном насыщении гомогената жуков сульфатом аммония в осадке обнаруживается слабая активность ферментов биосинтеза

пролина (кофактор НАДФ⁺), в то время как в надосадке наблюдается усиление активности ферментов более чем в 4 раза. Это объясняется тем, что в надосадке еще сохраняются все ферменты пентозного цикла, осуществляющие синтез НАДФН, являющиеся кофактором для одного из ферментов биосинтеза пролина - П5КР. Подтверждению этого посвящены следующие серии экспериментов.

Таблица 5. Влияние окисленных нуклеотидов на ферменты биосинтеза пролина осадка и надосадка гомогената жуков, полученных при 30%-ном насыщении сульфатом аммония, мкМ про на 1г ткани

Варианты	Кофакторы	Фракции	Активность
гомогенат 30%-ное насыщение	НАДН		9,74±1,02
	НАДН	осадок	1,07±0,11
	НАДН	надосадок	3,92±0,34
	НАД ⁺	осадок	0,35±0,06
	НАД ⁺	надосадок	0,71±0,06
	НАДФ ⁺	осадок	0,71±0,05
		надосадок	3,24±0,35

Известно, что в проростках растений при отсутствии фотосинтеза кофактор НАДФН снабжается пентозофосфатным циклом. Исходя из этого, мы добавили в инкубационную среду гомогенат проростков гороха и проследили за процессом биосинтеза пролина (табл. 6). Гомогенат корешков и стебельков не обладает ферментативной активностью.

Таблица 6. Влияние гомогената проростков гороха на ферменты биосинтеза пролина личинок и жуков фасолевой зерновки, мкМ про на 1г ткани

Варианты		Активность		
		Гомогенат ⊗	Гомогенат ⊗ + гомогенат корешков	Гомогенат ⊗ + гомогенат стебельков
Личинки - 1	НАДФН	28,43±2,11	36,31±2,81	40,22±3,51
	НАДФ ⁺	6,86±0,65	19,6±1,31	23,5±2,12
	НАДФ ⁺ + цитрат	19,61±1,21	26,5±2,01	24,5±2,14
Жуки - 2	НАДФН	2,49±0,24	2,20±0,24	5,12±0,48
	НАДФ ⁺	0,92±0,12	1,20±0,12	1,82±0,14
	НАДФ ⁺ + цитрат	3,21±0,32	3,51±0,32	3,86±0,37

Примечание: Знак ⊗ принимает значения: 1 - личинок, 2 - жуков.

Данные таблицы показывают, что при сочетании гомогената личинок с гомогенатами корешков и стебельков гороха значительно стимулируется процесс биосинтеза пролина у личинок. Это особенно выражено при наличии окисленной формы НАДФ.

Однако гомогенат корешков не оказывает особого влияния на гомогенат жуков, в то время как при наличии гомогената стебельков активность ОТ и

П5КР удваивается как с окисленной, так и с восстановленной формой НАДФ. Примечательно, что у жуков, по сравнению с личинками, окисленная форма НАДФ с цитратом практически не стимулирует активность ферментов биосинтеза пролина.

Нами изучено также влияние цитрата и окисленных нуклеотидов на фракции, полученные при высаливании сульфатом аммония (табл. 7).

Таблица 7. Влияние цитрата и окисленных нуклеотидов на ферменты биосинтеза пролина во фракциях гомогената жуков, полученных при высаливании сульфатом аммония, мкМ про на 1г ткани

Фракции	Кофакторы	Органическая кислота	Активность
Целый гомогенат	НАДФ ⁺	-	0
Осадок от насыщения 30%-ного	НАДФ ⁺	цитрат	1,51±0,14
	НАДФ ⁺	-	0
	НАДФ ⁺	цитрат	0,10±0,01
	НАД ⁺	-	0,15±0,01
	НАД ⁺	цитрат	0,06±0,01
50%-ного	НАДФ ⁺	-	0
	НАДФ ⁺	цитрат	0,21±0,02
	НАД ⁺	-	0,16±0,01
	НАД ⁺	цитрат	0,06±0,008
65%-ного	НАДФ ⁺	-	0
	НАДФ ⁺	цитрат	0
	НАД ⁺	-	0
	НАД ⁺	цитрат	0

Выявлено, что стимулирующее свойство цитрата выражается не только на уровне целого гомогената жуков, но и в осадках, полученных при 30%- и 50%-ном насыщениях. Осадок от 65%-ного насыщения не обладает активностью ферментов биосинтеза пролина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х. Биолог. журн. Армении, 40, 4, 289-294, 1987.
2. Агаджанян А.Х. Док. дис., с. 331, Ереван, 1990.
3. Blumenkrantz N. Chem. Biochem., 13, 177-183, 1980.
4. Matsuzawa T., Wakatsuka T. Vitamins (Japan), 51, 7-10, 1977.
5. Misono H., Toyawa S., Soda K. J. Basterid, 148, 43-50, 1981.
6. Shiono T., Kador P. P., Kinoshito J. J. Biochem. Biophys. Acta., 881, 72-78, 1986.

Поступила 04.IX.2003

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 633.1:11

СОДЕРЖАНИЕ ПЛАСТИДНЫХ ПИГМЕНТОВ У ХЛОРОТИЧЕСКОГО ГИБРИДА ПШЕНИЦЫ (БЕЛОКРАПЧАТЫЙ ХЛОРОЗ)

Р.Р. САДОЯН

Армянская сельскохозяйственная академия, Ереван, 375009

Комплементация слабых аллелей генов летальности приводит к частичной дегенерации ассимиляционного аппарата гибридных растений. В фенокритической фазе (колошение) наблюдается уменьшение содержания хлорофилла "а" и повышение хлорофилла "б", которое продолжается и в стадии цветения. Изменение хлорофилльного баланса в свою очередь приводит к некоторому снижению продуктивности колоса, что, вероятно, является результатом общей слабости гибридного организма.

Լետալ գեների թույլ ալելների կոմպլեմենտացիան հանգեցնում է հիբրիդային բույսերի ափսոսլիացիոն ապարատի մասնակի քայքայման: Ֆենոկրիտիկ ֆազում (հասկակվում) դիտվում է քլորոֆիլ "a"-ի պարունակության նվազում և քլորոֆիլ "b"-ի բարձրացում, որը շարունակվում է նաև ծաղկման փուլում: Քլորոֆիլային հաշվեկշռի փոփոխություններն իրենց հերթին բերում են հասկի արդյունավետության որոշ ճնշվածության, որը հավանաբար, հիբրիդային օրգանիզմի ընդհանուր թուլության արդյունք է:

Complementation of weak alleles of dominant genes of white spot chlorosis results in distraction of assimilation apparatus of hybrid plants on late phases of ontogenes. It continued during hybrid plants development. Disturbance takes place in proportion of chlorophyll changes in chlorophyll balance results in some depression in indexes of yield capacity. It is may be result of general weakness of hybrid organism.

Ген - пластидный пигмент - гибридный хлороз - комплементация

Среди комплементарных доминантных генов, обуславливающих снижение жизнедеятельности гибридов пшеницы и возникновение у них летального и сублетального эффектов, значительное место занимают те наследственные факторы, которые становятся причиной образования гибридных хлорозов. В результате деятельности этих генов происходит преждевременная дегенерация ассимиляционного аппарата, общее уменьшение хлорофиллов, что в свою очередь приводит к депрессивности гибридного поколения.

Известны 4 типа хлоротического поражения гибридов пшеницы. Из них обстоятельно изучены красный и белокрапчатый хлорозы.

Белокрапчатый хлороз проявляется в случае комплементации генов Ch_{1ws} , Ch_{2ws} , Ch_{3ws} . Единственным известным источником Ch_{1ws} , Ch_{3ws} является китайский сорт Ю-цзы-май [5].

Ген Ch_{2ws} обнаружен у 40 % изученных образцов различных видов и

сортов пшеницы. Наличие множественных аллелей (*w*, *m*) этого гена расширяет фенотипическое проявление хлороза. Выяснена также картина видовой и биотипической локализации гена Ch_{2ws} [1, 2].

Белокрапчатый хлороз возникает при внутривидовых (*Triticum aestivum*) и межвидовых (*T.aestivum* с *T.macha*, *T.durum*, *T.turgidum*) скрещиваниях пшеницы. Он имеет специфическое фенотипическое проявление и является самым слабым типом гибридной депрессивности. В онтогенезе он проявляется сравнительно поздно, развивается медленно, растение полностью проходит фазу репродуктивного развития, формируя почти нормальные колосья [1, 2, 5].

Изучение элементов продуктивности колоса и фертильности пыльцы показало, что хлоротический гибрид мало отличается от родительских форм [11].

Дегенерация хлорофилльного аппарата начинается в конце кушения или в начале стеблеобразования. Поражение охватывает одновременно стебель, листья, чешуйки и ости колосков. Этим он и отличается от других типов гибридной депрессии (красный хлороз и гибридный некроз), при которых поражаются только листья. Все растение полностью покрывается мелкими точечками. В процессе дальнейшего развития белые точки сливаются, образуя белые полосы. Растение обесцвечивается, приобретает светло-зеленоватый оттенок и отличается от родительских форм.

Деятельность трех различных независимых генетических систем (гибридный некроз, белокрапчатый и красный хлорозы) приводит к идентичным физиологическим изменениям, распаду пигментов, хотя каждая форма депрессивности имеет свое четкое морфологическое проявление, специфическое развитие и конечный результат.

Обсуждая вопросы генетического механизма возникновения гибридного некроза, Шмальц [14] пришел к выводу, что причина сильного угнетения гибридного растения — это преждевременная потеря ассимиляционного аппарата в результате действия генов некроза.

Анатомическое изучение листьев некротических растений показало, что цветковые изменения связаны с дегенерацией хлорофилльного аппарата в клетках мезофила [10, 13, 15].

Цитологические и цитохимические исследования летального некротического гибрида показали, что клетки губчатой паренхимы, хлоропласты и сосудисто-волокнистые пучки на кончиках и в средней части листьев облитерируются. Клетки основания некротических листьев содержат меньше хлоропластов, чем родительские формы, хотя визуально они не отличаются друг от друга [7].

У сильнекротических гибридов физиологические нарушения начинаются до появления признаков некроза. У них наблюдается снижение количества хлорофиллов "а" и "в", резкое повышение интенсивности дыхания листьев и дальнейшее ее падение из-за увеличения пораженной площади листовой пластинки [9].

Изучение некротических гибридов различной силы показало, что депрессия по уровню хлорофиллов зависит от силы аллелей генов некроза у родительских форм [3].

При гибридном некрозе и красном хлорозе отмечается разрушение пластидных пигментов и изменение соотношения между хлорофиллами "а" и "б", превалирование уровня хлорофилла "б" над хлорофиллом "а" [8, 12]. Снижение уровня хлорофиллов имеет место и в случае белокрапчатого хлороза [5].

Целью наших исследований было изучение влияния комплементации генов белокрапчатого хлороза на синтез и накопление хлорофиллов у гибридов и их родительских форм.

Материал и методика. Исследования вели в Араратской зоне республики в условиях орошаемого земледелия. Семена получены из Армянского научно-исследовательского института земледелия. Гибриды F_1 получены методом искусственного опыления. Содержание пигментов определяли в различные периоды онтогенетического развития: кушение, стеблеобразование, колошение, цветение.

Количественное определение пигментов проводили фотоколориметрическим методом по Роббелену [4].

Всю подготовительную работу вели в прохладном помещении, 85%-ные ацетоновые вытяжки измеряли спектрофотометром СФ-26 при длине волн: хлорофилл "а" - 663 нм, "б" - 644 нм. Опыт поставлен в шестикратной повторности. Ошибку средней арифметической полученных данных вычисляли по Доспехову [6].

Результаты и обсуждение. Нами изучалась гибридная комбинация Кавказ х Ю-цзы-май (F_1). Сорт Кавказ имеет слабый аллель гена Ch_2^{ws} [1].

В фазе кушения гибрид развивался наравне с родительскими формами. Несмотря на это, по сумме хлорофиллов в листьях он на 18% уступал материнской форме, а с отцовской — находился практически на одном уровне (рис.1).



Рис. 1. Динамика содержания хлорофиллов при белокрапчатом хлорозе пшеницы (Кавказ х Ю-цзы-май) F_1

В фазе стеблеобразования у всех образцов наблюдалось увеличение содержания пигментов.

В начале колошения (фенокритическая фаза) гибрид фенотипически отличался от родительских форм наличием множественных блеклых точек по всей поверхности растения. Выяснилось, что хотя по сравнению с фазой стеблеобразования у родительских форм и гибрида повышается содержание хлорофилла, однако у первых его уровень выше (у материнской формы 15,4%, у отцовской 13,7%), чем у гибрида, что происходит в основном за счет хлорофилла "б". В соответствии с этим менялось также соотношение хлорофилла "а" и "б".

При дальнейшем развитии, в фазе цветения у гибридных растений значительно уменьшался уровень хлорофилла "а", а хлорофилла "b" повышался, тогда как у родительских форм отмечалась тенденция к уменьшению обеих форм хлорофилла.

В результате соотношение хлорофиллов "а" и "b" у гибрида продолжало уменьшаться, а у родительских форм — возрастать.

Итак, комплементация слабых аллелей доминантных генов белокрапчатого хлороза приводит к некоторому повышению стерильности пыльцы, снижению элементов продуктивности колоса и частичному разрушению ассимиляционного аппарата листа. В начальных фазах развития гибридных растений (кушение, стеблевание) не происходит изменение хлорофилльного баланса, как это отмечается при наличии сильных аллелей генов гибридного некроза.

Начиная с фенокритической фазы (колошение), наблюдается снижение уровня хлорофилла "а" и повышение хлорофилла "b", что продолжается при дальнейшем развитии (цветение). Нарушается нормальное соотношение хлорофиллов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бекназарян Л.Г. Автореф. канд. дисс., Ереван 1975.
2. Бабаджанян Г.А., Бекназарян Л.Г. Тр. Арм. НИИЗ с. "Пшеница", 1976.
3. Вьюгина Г.В. Докл. ТСХА, вып. 249, с. 78-80, 1979.
4. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Б., Хандобина Л.М. Большой практикум по гидрологии растений. "Высшая школа", М., с. 392, 1975.
5. Дарбинян Н.О. Генетика, IX, 6, 5-101, 1973.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. "Колос", М., с. 335, 1973.
7. Мнацаканян О.А., Оганесян Дж.О., Минасян М.А., Мартиросян В.Т. Тр. Арм. НИИЗ с. "Пшеница", 1, 21-25, 1973.
8. Наскидашвили П.П. Межвидовая гибридизация пшеницы. "Колос", М., 255, 1984.
9. Петросян А.С. Биолог. журн. Армении, 26, 2, 108-109, 1973.
10. Пираковский И.А. Автореф. канд. дисс., Харьков, 1972.
11. Садоян Р.Р., Азарян К.Г. Ученые записки ЕГУ, 1, 91-95, 2002.
12. Самадашвили Ц.Ш. Сообщ. АН Груз.ССР, 78, 2, 445-447, 1975.
13. Hermesen Y.G. Verslagen van Landbouwk. Onderz 68, 5, 129, 1962.
14. Schmalz H. I Genetische untersuchungen Der. Zuchter 29, 5, 207-217, 1959.
15. Toxopeus H., Hermesen Y.G. Euphytica 13, 1, 29-32, 1964.

Поступила 11.IV.2003

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

ՌԻՏԴ 619:615.37

ԿՈՎԿԱՍՅԱՆ ԳՈՐԶ ԶԵՂԻ ՀՈՐԹԵՐԻ ՊԱՇՏՊԱՆԱԿԱՆ ՀՈՒՄՈՐԱԼ ԵՎ ԲՋՋԱՅԻՆ ԳՈՐԾՈՆՆԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ

Գ.Ռ. ՀԱՍԲԱՐԶՈՒՄՅԱՆ

Հայկական գյուղատնտեսական ակադեմիա, 375009, Երևան

Հետազոտվել է կովկասյան գորշ ջեղին պատկանող հորթերի օրգանիզմի պաշտպանական բջջային և հումորալ գործոնների ակտիվությունը: Հաստատվել է լեյկոցիտների ֆագոցիտային բարձր ակտիվությունը, որը հորթերի մինչև 20 օրական հասակը նվազում է, ինչպես նաև նկատվել է թույլ արտահայտված հումորալ ակտիվություն և լիզոցիմային ակտիվության բացակայություն: Ցույց է տրվել հորթերի հասակի հետ միասին արյան շիճուկի մանրէասպան և լիզոցիմային ակտիվությունների աստիճանաբար բարձրացում:

Исследовали клеточную и гуморальную активность организма новорожденных телят кавказской бурой породы. Установлены высокая фагоцитарная активность лейкоцитов, снижающаяся к 20-дневному возрасту, слабо выраженная гуморальная активность и отсутствие лизоцимной. Показано постепенное увеличение с возрастом бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови.

The cellular and humoral activities of new-born Caucasian calves were investigated. High leukocytes phagocytic activity decreased to 20 days age, weak expressed humoral activity and absence of lysozymic have been established. It has been shown that along with age bactericidal and lysozymic activities of blood serum gradually increase.

Հորթեր - բնական դիմադրողականություն - արյան շիճուկ - ֆագոցիտային ակտիվություն - հումորալ իմունիտետ

Արտաքին միջավայրի անբարենպաստ գործոնների նկատմամբ կենդանի օրգանիզմի դիմադրողականության բարձրացման հետ կապված հարցերը միշտ գրավել են հետազոտողների ուշադրությունը [1, 2, 6, 8-11]: Բնական դիմադրողականության բարձրացումը ինչպես հիվանդությունների ընդհանուր կանխարգելման, այնպես էլ դրանց արագ բուժման կարևորագույն գործոն է:

Կենդանիների հիվանդանալը և անկումները շատ հաճախ նրանց շահագործման, պահվածքի, խնամքի և կերակրման ոչ համապատասխան պայմանների առկայության հետևանք են: Դրանք առաջ են բերում օրգանիզմի բնական դիմադրողականության նվազում և հիվանդությունների առաջացում:

Էվոլյուցիայի ընթացքում ձեռք բերված, կենդանի օրգանիզմներին բնորոշ առանձնահատկություններից մեկը արտաքին տարբեր ազդեցությունների նկատմամբ օրգանիզմի հարմարվողական հատկությունն է, ներքին միջավայրի մշտականության պահպանումը:

Չնայած այն բանին, որ օրգանիզմի պաշտպանական ոչ յուրահատուկ գործոնները ժառանգական բնույթ են կրում, դրանք կարող են արտահայտվել

տարբեր ուժով՝ կախված տվյալ օրգանիզմի հարմարվողականության հնարավորություններից և առանձնահատկություններից, կենդանու տեսակից, հասակից, ցեղից:

Օրգանիզմի դիմադրողականությունը պայմանավորված է տարբեր օրգանների և համակարգերի ֆունկցիոնալ ակտիվությամբ, բջջային և հումորալ պաշտպանիչ բազմաթիվ գործոններով, որոնք են՝ մաշկը և լորձաթաղանթները, ջերմաստիճանային և բորբոքային ռեակցիաները, լեյկոցիտների քանակը և տեսակային հարաբերակցությունը, միկրո- և մակրոֆագերի ֆագոցիտային ակտիվությունը, արյան հումորալ գործոնները (լիզոցիմ, կոմպլեմենտ, ինտերֆերոն, հակամարմիններ) և այլն:

Հաշվի առնելով բնական դիմադրողականությունը պայմանավորող գործոնների որոշման կարևորությունը, բազմաթիվ հետազոտողների կողմից ուսումնասիրվել է տարբեր տեսակի, ցեղի, հասակի կենդանիների օրգանիզմի բջջային և հումորալ գործոնների դիմամիկան: Կովկասյան գորշ ցեղի հորթերի վերոհիշյալ ցուցանիշների վերաբերյալ համեմատաբար քիչ տեղեկություններ կան, որը և հիմք հանդիսացավ մեր կողմից դրանց ուսումնասիրման համար:

Լյուր և մեթոդ: Հետազոտությունների համար առանձնացվել է կովկասյան գորշ ցեղին պատկանող կլինիկապես առողջ վեց գլուխ հորթեր: Հետազոտությունները կատարվել են հետևյալ հաջորդականությամբ՝ մինչև խիժով առաջին կերակրումը, իսկ այնուհետև 5, 10, 20, 30, 45 և 60 օրական հասակներում:

Լեյկոցիտների ֆագոցիտային ակտիվությունը (ՖԱ), ֆագոցիտային ինդեքսը (ՖԻ), ֆագոցիտային թիվը (ՖԹ) և ֆագոցիտային տարողությունը (ՖՏ) որոշվել են ըստ Պլաշչենկոյի [7, 8] աղիքային ցուպիկի մեկ օրական ազարային կուլտուրայի 2 մլրդ կախուկի օգտագործմամբ:

Արյան շիճուկի մանրէասպան ակտիվությունը որոշվել է Սմիրնովայի և Կուզմինայի ֆոտոէլեկտրապոտորաչափիչ մեթոդով Սաքսիմյուկի և Տելիշևսկայայի ձևափոխմամբ [3], իսկ մանրէասպան ակտիվության լարվածությունը՝ ըստ Պլաշչենկոյի [7]: Փորձի ժամանակ օգտագործվել է աղիքային ցուպիկի 1 օրական ազարային կուլտուրայի 500 մլն-ոց կախուկ: Փորձնական և ստուգիչ փորձանոթների պարունակյալների օպտիկական խտությունները ստուգվել են կարմիր լուսաֆիլտրով, նախքան ջեռոց դնելը, այնուհետև՝ ջեռոց դնելը և 24 ժամ անց:

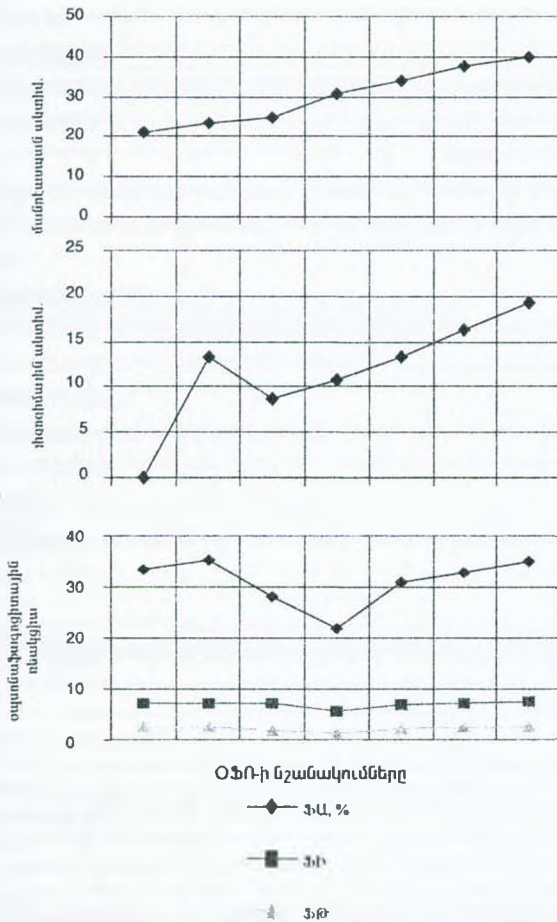
Արյան շիճուկի լիզոցիմային ակտիվությունը որոշվել է ֆոտոէլեկտրագունաչափիչ մեթոդով ՈՒՓԱՀԻ-ի գոոհիգենիայի բաժնի ձևափոխմամբ: Օգտագործվել է *Micrococcus lysodeicticus*-ի 1 օրական ազարային կուլտուրայի 1 մլրդ կախուկ պատրաստված կերակրի աղի 0,5 %-ոց մանրէազերծ լուծույթով: Փորձնական և ստուգիչ փորձանոթների պարունակյալների օպտիկական խտությունները ստուգվել են կանաչ լուսաֆիլտրով, նախքան ջեռոց դնելը և ջեռոցում պահելուց 3 ժ անց:

Հետազոտության արդյունքները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման ըստ Օյվինի և Մերկուրևայի [4, 5, 7]:

Արդյունքներ և քննարկում: Ըստ ստացված տվյալների, նորածին հորթերն աչքի են ընկնում արյան լեյկոցիտների ֆագոցիտային բարձր ակտիվությամբ (33.33%) և ինդեքսով (7.10): Այդ հասակի հորթերի լեյկոցիտների ՖԹ-ն և ՖՏ-ն կազմում են համապատասխանաբար 2.37 և 13784.0:

Համեմատած նորածինների հինգ օրական հորթերի մոտ նկատվում է հետազոտվող ցուցանիշների քանակի որոշակի բարձրացում: Այսպես, այդ հասակում ՖԱ-ն կազմում է 35,17%, որը մոտավորապես 1,84%-ով բարձր է նորածինների նույն ցուցանիշից, իսկ ՖԻ-ն, ՖԹ-ն և ՖՏ-ն այդ հասակում կազմում են համապատասխանաբար 7.31, 2.58 և 19707.0:

Տաս և քսան օրական հորթերի մոտ հետազոտվող բոլոր ցուցանիշներն աստիճանաբար նվազում են՝ նախորդ ցուցանիշների համեմատությամբ: Ընդ



Նկ. Կովկասյան գորշ ցեղի հորթերի պաշտպանական հումորալ և բջջային գործոնների դինամիկան:

որում, հետազոտության ողջ ընթացքում ՖԱ-ի (21.83 %), ՖԻ-ի (5.64), ՖԹ-ի (1.24) և ՖՏ-ի (10020.67) նվազագույն ցուցանիշը քսան օրական հորթերի մոտ է, որը ցածր է հետազոտության սկզբնական և վերջնական համապատասխան ցուցանիշներից ($P < 0,05$):

Քսան օրական հորթերի նույն ցուցանիշների համեմատությամբ, երեսուն օրական հորթերի մոտ բոլոր ցուցանիշները աճում են: Այսպես, լեյկոցիտների ՖԱ-ն ավելանում է 9.0 %-ով, իսկ ՖԻ-ն, ՖԹ-ն և ՖՏ-ն՝ համապատասխանաբար՝ 1.21-ով, 0.87-ով և 8754.5-ով:

Վաթսուն օրական հորթերի լեյկոցիտների ՖԱ-ն և ՖԻ-ն կազմում են 35.0 % և 7.55, իսկ ՖԹ-ն և ՖՏ-ն համապատասխանաբար՝ 2.64 և 26422.17:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ նորածին հորթերի արյան շիճուկի մանրէասպան հատկությունը

թույլ է արտահայտված. ստուգվող հորթերի մոտ այն կազմել է 21.25 %: Հետազոտվող կենդանիների հետագա աճին ու զարգացմանը զուգընթաց նկատվում է մանրէների աճն արգելակող արյան շիճուկի հատկության ուժեղացում: Ընդ որում, մանրէասպան ակտիվության առավելագույն բարձրացում՝ նախորդ ցուցանիշների համեմատությամբ, քսան օրական հորթերի մոտ է նկատվել (5.81 %): Հետազոտության ավարտին հորթերի արյան շիճուկի մանրէասպան ակտիվությունը կազմել է 39.77 %:

Ինչ վերաբերում է նորածին հորթերի արյան շիճուկի լիզոցիմալին ակտիվությանը, ապա այն՝ մինչև խիժով առաջին կերակրումը բացակայել է: Հինգ օրական հորթերի արյան շիճուկն օժտված է լիզոցիմալին ակտիվությամբ, որը կազմում է 13.34 %: Տաս օրական բոլոր հորթերի արյան շիճուկի լիզոցիմալին ակտիվությունը նվազում է (4.6 %-ով)՝ հետազոտության ողջ ընթացքում գտնվելով ամենացածր աստիճանի վրա: Այնուհետև, քսան օրական հորթերի արյան շիճուկի լիզոցիմալին ակտիվությունը բարձրանում է և կազմում 10.87 %: Այդ հասակից սկսած մինչև հետազոտության ավարտը հորթերի արյան շիճուկի լիզոցիմալին

ակտիվությունն աստիճանաբար բարձրանում է և վաթսուն օրական հորթերի մոտ կազմում 19.31 %:

1. Մինչև հորթերի քսան օրական հասակը օրգանիզմի պաշտպանական բջջային գործոնների ակտիվությունն աստիճանաբար նվազում է, իսկ դրանից հետո այդ ցուցանիշները սկսում են բարձրանալ: Ընդ որում, լեյկոցիտների ֆագոցիտային ակտիվության, ինդեքսի, թվի և տարողության նվազագույն ցուցանիշը քսան օրական հորթերի մոտ է:

2. Կովկասյան գորշ ցեղի նորածին հորթերի արյան շիճուկի մանրէասպան ակտիվությունը թույլ է արտահայտված, որը հորթերի աճին ու զարգացմանը զուգընթաց աստիճանաբար բարձրանում է:

3. Մինչև խիժով առաջին կերակրումը նորածին հորթերի արյան շիճուկում լիզոցիմը բացակայում է: Լիզոցիմային ակտիվության նվազագույն ցուցանիշը տաս օրական հորթերի մոտ է և այդ հասակից սկսած լիզոցիմային ակտիվությունն աստիճանաբար բարձրանում է:

4. Ստացված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ կովկասյան գորշ ցեղին պատկանող նորածին հորթերի պաշտպանական բջջային գործոնները համեմատաբար ուժեղ են զարգացած, քան պաշտպանական հումորալ գործոնները:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Емельяненко П.А. Иммунология животных в период внутриутробного развития. М., Агропромиздат, 27-40, 1987.
2. Игнатъев Р.Р., Бондаренко Г.Ч. Ветеринария, 10, 21-22, 1994.
3. Максимюк Н.Н., Телишевская Л.Я. Ветеринария, 2, 35-36, 1995.
4. Меркурева Е.К. Биометрия в животноводстве. М., Колос, 311, 1964.
5. Меркурева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. М., 424, 1990.
6. Носков Н.М. Реактивность у телят в онтогенезе. Горький, 13-26, 44-47, 63-83, 1963.
7. Ойвин И.А. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 4, 76-85, 1960.
8. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных. Л., Колос, 184, 1979.
9. Плященко С.И., Сидоров В.Т., Хацкевич В.Т. Сельскохозяйственная биология. 5, 753-758, 1976.
10. Сидоров В.Т. Автореф. канд. дисс. 26, 1972.
11. Чумаченко В.Е., Высоцкий А.М. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных. Киев, 134, 1990.

Поступила 04.IX.2003

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 577.154.31

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ РОДА *BACILLUS* С ИНУЛИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Г.В. МАРТИРОСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Из различных образцов почв выделены 25 мезофильных штаммов рода *Bacillus* с инулиназной активностью. Изучены два наиболее активных продуцента, которые относятся к *B.subtilis* и *B.megaterium*. Штаммы обладают высокой инулиназой и инвертазной активностью и могут быть рекомендованы к применению в промышленных условиях.

Հողերի տարբեր նմուշներից անջատվել են ինուլինազային ակտիվությամբ օժտված *Bacillus* ցեղին պատկանող 25 մեզոֆիլ շտամեր: Դետումնասիրվել են երկու առավել ակտիվ արտադրիչները, որոնք պատկանում են *B.subtilis* և *B.megaterium* տեսակներին: Շտամերն ունեն բարձր ինուլինազային և ինվերտազային ակտիվություն և առաջարկվում են օգտագործելու արտադրական պայմաններում:

25 mesophilic strains of genus *Bacillus* have been isolated from different soil samples. Two the most active strains were identified as *B.subtilis* and *B.megaterium* and their properties were investigated. Due to the high inulinase and invertase activities they can be applied in industry.

Bacillus - инулиназа -инулин- фруктозо-глюкозный сироп-инвертаза-сахароза.

В настоящее время все большее внимание уделяется сахарам природного происхождения, так как синтетические заменители, такие как сахарин, цикламат натрия и др. [2] небезопасны для организма человека. В качестве подсластителя особый интерес представляют фруктозо-глюкозный сироп (ФГС) [11, 12], высококонцентрированный фруктозный сироп (ВКФС) и фруктоолигосахариды (ФОС) [10, 13, 14], получаемые из инулина под воздействием инулиназ микробного происхождения. Эти вещества отличаются отсутствием калорийности и могут свободно использоваться диабетиками; не обладают кариогенностью, так как не утилизируются со стороны *Streptococcus mutans*, следовательно, не образуют кислоты и нерастворимые глюканы [13]; снижают уровень холестерина в крови [5] и имеют все свойства пребиотиков — веществ, которые не перевариваются в верхних отделах кишечного тракта, но усваиваются бифидобактериями, способствуя их росту, опосредованно ингибируя рост патогенных бактерий в толстом кишечнике, тем самым нормализуя кишечную микрофлору [4].

Инулин — полифруктан, находящийся во многих растениях, особенно у представителей семейства сложноцветных [6], состоящий из фруктозы, в

котором фруктозные остатки связаны β -2,1-связями, оканчиваясь остатком глюкозы. Полисахаридная цепочка инулина состоит из 25-35 фруктозных остатков. Инулиназы (2,1- β -D фруктан фруктангидролазы) (КФ 3.2.1.7) [15] - индуцибельные ферменты, которые катализируют гидролиз инулина посредством расщепления β -2,1-связей в молекуле [7]. По характеру воздействия на субстрат инулиназы подразделяются на экзо- и эндоферменты. Экзоферменты расщепляют инулин с одного конца, с высвобождением остатка фруктозы из молекулы инулина. Имеются также микроорганизмы, обладающие эндоинулиназами, которые расщепляют молекулу инулина на олигофруктаны, в основном на инулотриозы, -тетрозы и -пентозы, 1-кестозу, нистозу и 1'-фруктофуранозил нистозу [13,15]. Фермент по характеру размещения может быть внутри- и внеклеточным.

Получение ФГС и олигофруктанов с помощью фермента инулиназы или биомассы продуцентов протекает в один этап без побочных продуктов. В зависимости от вида конечного продукта используется определенный тип фермента.

Микробные инулиназы воздействуют и на инулин, и на сахарозу. Истинной инулиназой называется тот фермент, у которого инвертазная активность (S) по отношению к инулиназной (I) (S/I) не превышает 10-15 [9].

В данной статье дана сравнительная характеристика роста культур, продукции фруктозы в зависимости от условий культивирования. Благодаря целенаправленному поиску, получены новые штаммы, которые можно использовать для расщепления как инулина, так и сахарозы с получением ФГС.

Материал и методика. Объектами исследования явились культуры М11 и М14, выделенные из почвенных образцов.

Для выделения и обогащения их были использованы следующие среды (г/л):

среда 1: инулин — 5, дрожжевой экстракт — 5, пептон — 10; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2, агар — 20, pH 6,8;

среда 2: инулин — 20, дрожжевой экстракт — 10, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2, pH 6,8.

Стерилизация проводилась при 121° 20 мин. Инулин стерилизовали отдельно при 110° 15мин и асептически добавляли в основную среду.

Культуры выделяли методом накопительных культур, а именно исследуемую почву в количестве 3 г суспендировали в 1%-ном растворе инулина в дистиллированной воде и выдерживали в термостате две недели, периодически обновляя среду. После двух недель каплю этой суспензии наносили штрихом на чашки Петри со средой 1 и инкубировали при 37° в течение суток.

Получение чистых культур. Выросшие колонии суспендировали в дистиллированной воде, разводили до 1:1000, полученную суспензию высевали методом Дригальского и повторяли процесс 3 раза до получения гомогенных культур, определяемых под микроскопом.

Глубинное культивирование штаммов осуществляли в 200-миллилитровых колбах Эрленмейера с 30 мл среды в течение 18 ч при 37° на качалке.

Идентификацию культур проводили по известным первоисточнику [8] и определителю [3].

Аналитические методы. После 18 ч инкубирования биомассу отделяли, промывали 0,12M Na/K- фосфатным буфером (pH 6,8) и удаляли избыток жидкости под инфракрасной лампой. Ферментативную активность культуральной жидкости и клеток определяли по модифицированному методу Шомоди-Нельсона при длине волны 620nm. В качестве контроля брали 1%-ный раствор инулина или сахарозы, растворенных в 0,12M Na/K-фосфатном буфере. Образование конечных продуктов определяли по отношению к 1%-ному раствору инулина или сахарозы в 0,12 M Na/K-фосфатном буфере при pH 6,8.

Количественное определение общих сахаров проводили антропным методом. Количество фруктозы и глюкозы определяли с помощью ферментных китов фирмы Boehringer-Mannheim, термо- и pH-стабильность - по методике [1]. За единицу активности принимали количество (мкМ) редуцирующих веществ, образовавшихся в единицу времени.

Результаты и обсуждение. Из 25 мезофильных культур, выделенных из различных почвенных образцов и обладающих инулиназной активностью, были отобраны два штамма с высокой инулиназной и инвертазной активностью. Они обладали внутриклеточным ферментом и условно обозначены М11 и М14.

Характеристика полученных штаммов. В результате изучения морфолого-культуральных и физиолого-биохимических особенностей выявлено, что выделенные культуры М11 и М14, продуценты инулиназ, относятся к видам *B.subtilis* и *B.megaterium* соответственно. Ниже приводятся их морфо-физиологические характеристики.

Штамм М11. Выделен из почвы Канакерского района г. Еревана. Строго аэробные, подвижные, палочковидные клетки, размерами 0.6-0.8 x 2-3 мкМ, грамположительные. Споры овальные, парацентральные, не раздувают спорангий.

Образует колонии неправильной формы с неровными краями, грязно-белые, матовые, плоские, по периферии гладкие центральная часть с шероховатостями. Хорошо растет на инулине, сахарозе, фруктозе, крахмале, казеине, образует кислоту из глюкозы, арабинозы, ксилозы, не образует кислоту из маннита. Не гидролизует гиппурат, не утилизирует цитрат и пропионат. Оптимальная температура роста 37°, температурные пределы роста 25-55°.

Штамм М14. Выделен из почвы Чарбахского района г. Еревана. Строго аэробные, подвижные, палочковидные клетки, размерами 1.2-1.5 x 2-4 мкМ, в цитоплазме есть неокрашиваемые включения. Грамположительные. Споры овальные, центральные и парацентральные, раздувают спорангий.

Колонии округлые, диаметром 0.5-0.8 см, края ровные, гладкие, центральная часть с характерным бугорком, колонии серо-белые, блестящие, с радиальной исчерченностью от центрального бугорка.

Хорошо растет на инулине, сахарозе, фруктозе, крахмале, казеине, образует кислоту из глюкозы, арабинозы, ксилозы, маннита, не гидролизует гиппурат, не утилизирует цитрат, пропионат.

Оптимальная температура роста 30°, температурные пределы роста 15-45°.

Основные характеристики изученных штаммов представлены в табл. 1.

Ферментативные особенности штаммов. Оба штамма обладают внутриклеточными инулиназами, являющимися экзоферментами, которые расщепляют также сахарозу, т.е. обладают и инвертазными свойствами. Зависимость инулиназной активности этих культур от pH и температуры и ее стабильность при этих показателях представлены на рис. 1-4. Необходимо отметить, что у этих продуцентов максимум инулиназной активности совпадает или чуть превышает температурный максимум роста. Для М11 максимальная активность составляет 1245 ед. и проявляется при температуре 50° и pH 5.5, а для М14 - 498 ед. при температуре 50° и pH 7.0.

Таблица 1. Характеристика исследованных мезофильных культур аэробных спорообразующих бактерий-продуцентов инулиназ

Признаки	<i>Bacillus subtilis</i> штамм М11	<i>Bacillus megaterium</i> штамм М14
Форма клеток	Палочковидные	Палочковидные
Размер клеток, мкм	0.6-0.8 x 2-3	1.2-1.5 x 2-4
Форма спор	Эллипсоидные	Эллипсоидные
Расположение спор	Парацентральное	Центральное и парацентральное
Подвижность	+	+
Образование каталазы	+	+
Анаэробный рост	-	-
Температурные пределы роста, °С	23-50	15-45
Рост в присутствии NaCl, %		
5	+++	+++
7	++	++
10	+	+
Кислота из		
глюкозы	+++	+++
арабинозы	+++	+++
ксилозы	+++	+++
маннита	-	++
Гидролиз		
крахмала	+ _{0.5}	+ _{0.5}
гиппурата	-	-
Утилизация цитрата	-	-
Денитрификация	+	+
Разложение казеина	+++	+++
Окраска по Граму	+	+
Реакция Вогес-Проскауера	-	-
Образование дигидроксиацетона	-	+
Гидролиз тирозина	-	-
Газ из глюкозы	-	-
Дезаминирование фенилаланина	-	+
Рост при pH 5.7	+	+

Условные обозначения: "+" - признак имеется, "-" - признак отсутствует.

Как видно из рис. 3 и 4, М11 при выдержке в течение 1ч сохраняет 50-55.4% остаточной активности от общей при pH 7.5-8.5, а М14 - 43.3% при pH 5.5. Зависимость от температуры более жесткая: М11 сохраняет 12-15,1% остаточной активности при 25-37°, а М14 - 39.4% при 25-40° соответственно.

Штаммы обладают также высокой инвертазной активностью. Отношение S/I у М11 составляет 1.47 и 1.57 у М14. Вследствие закономерного спада инулиназной и инвертазной активности обоих штаммов при определении термо- и pH-стабильности можно предположить, что у них за активность отвечает один и тот же фермент.

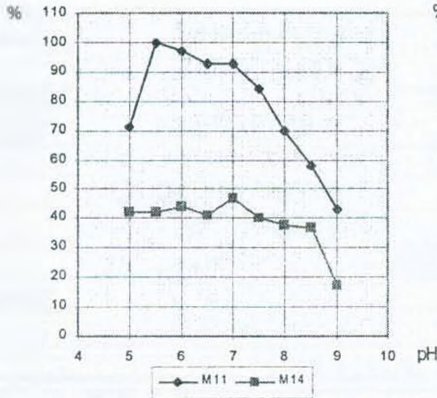


Рис. 1. Инулиназная активность штаммов M11 и M14 при различных значениях pH.

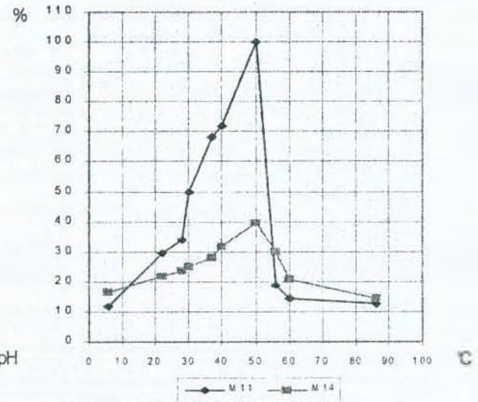


Рис. 2. Инулиназная активность штаммов M11 и M14 при различных значениях температур.

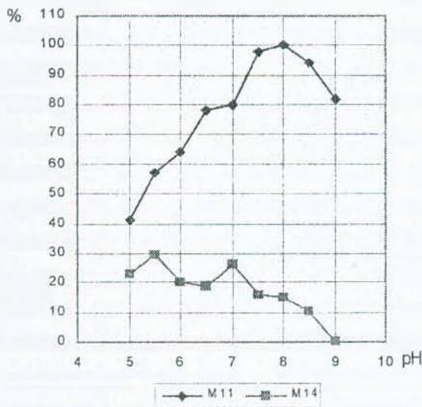


Рис. 3. pH стабильность штаммов M11 и M14.

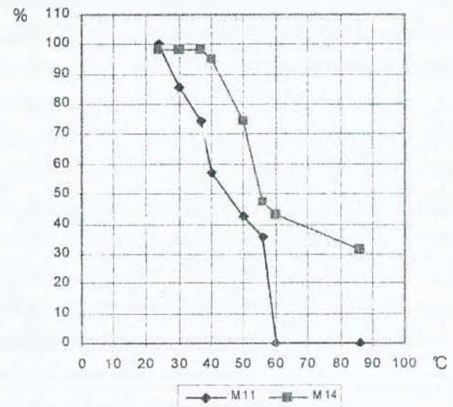


Рис. 4. Термостабильность штаммов M11 и M14.

Таким образом, с использованием модифицированной среды для целенаправленного выделения штаммов с инулиназной активностью из 20 образцов почв были получены 25 штаммов аэробных спорообразующих бактерий. Из них отобраны 2 штамма с высокой активностью в 1245ед. у M11 и 498ед. у M14. Штаммы обладают также инвертазной активностью. Оба штамма обладают внутриклеточным ферментом. Исходя из представленных результатов, изученные штаммы могут быть рекомендованы для использования в промышленных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абеян В.А. Получение и применение иммобилизованных ферментов и клеток. Ереван, 1989.
2. Мартиросян Г.В., Балаян А.М., Манукян Л.С., Абеян В.А. Мат-лы VIII Международной конф. "Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы", 12, 1, 41, 2003.
3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Williams and Wilkins Co.,

- Baltimore, 2, 1104-1139, 1986.
4. *Biacs Peter A.* "9-th Seminar on Inulin. Prebiotics and Probiotics ", Bay Zoltan Foundation for Applied Research, p.8, Budapest, Hungary, 2002.
5. *Ciealik E., Kopea A., Praznik W.* "9-th Seminar on Inulin. Functional properties of fructans", Department of Human Nutrition Agricultural University of Cracow, p.12, Budapest, Hungary, 2002.
6. *Demeulle S., Guiraud J-P. and Galzy P. S. Z.* Allg. Microbiol., 21, 181-189, 1981.
7. *Esteban B-F., Mariano G-G., Lorena G-R., Azaola A.* Process Biochem., 37, 513-519, 2001.
8. *Gordon R.E., Haysnes W.C., Pang C.H.W.* "The Genus Bacillus". USD of Agriculture, Washington D.C., 283, 1973.
9. *Gupta A.K., Gill A., Kaur N.* Phytochemistry, 49(1), 55-58, 1998.
10. *Jun J.W., Kim D.H., Uhm T.B., Song S.K.* Biotechnol. Letts., 19(9), 935-938, 1997.
11. *Kim C.H., Rhee S.K.* Biotechnol. Letts., 11(3), 201-206, 1989.
12. *Partida V.Z., Lopez A.C., Gomez A.J.M.* PN, WO 9734017 dt. 18/9/97, 1997.
13. *Won J.Y.* Enzyme and Microbial Technology, 19, 107-117, 1996.
14. *Yokota A., Yamauchi O., Tomita F.* Lett.Appl.Microbiol., 21(5), 330-333, 1995.
15. *Zittan L.* Starch, 33, 373-377, 1981.

Поступила 11.XI.2003

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 576.85.155

МЕТОДЫ КОНСЕРВАЦИИ КУЛЬТУР КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

Փ.Տ. МАТЕВОСЯՆ, Տ.Ա. АРУТЮՆՅԱՆ, Н.М. АЛЕКСАՆՅԱՆ, Т.У. СТЕПАՆՅԱՆ

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Хранение клубеньковых бактерий в стерильной почве, под вазелиновым маслом, в гранулированной пемзе и физиологическом растворе от 8 до 20 лет обеспечивает их выживаемость с сохранением культурально-морфологических, физиолого-биохимических свойств, а также вирулентности и азотфиксирующей активности.

Պաշարաբակտերիաների պահպանումը ստերիլ հողում, վազելինի յուղի տակ, պեմզայի հատիկներում և ֆիզիոլոգիական լուծույթում ապահովում է նրանց կենսունակությունը, պահպանելով կուլտուրալ-մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիկենսաբանական հատկանիշները, ինչպես նաև վարակունակությունն ու ազոտֆիքսացիայի ակտիվությունը 8-20 տարի:

The storage of nodul bacteria in sterile soil, under mineral oil, in granular pемice and physiological liquid during 8-20 years guarantees their survival keeping cultural-morphological, physiological-biochemical characteristics and also virulence and nitrogen-fixing activity.

Клубеньковые бактерии - хранение - консервация культур бактерий

Известно, что клубеньковые бактерии при использовании их для нитрагинизации оказывают положительное влияние на бобовые культуры [9, 18]. При этом отпадает необходимость применения химических удобрений. Это свойство клубеньковых бактерий имеет важное значение для сельского хозяйства.

О положительном эффекте по инокуляции посевов бобовых растений в Армении пишет Петросян [11]. Из низинных и горных районов Армении были получены различные экотипы клубеньковых бактерий люцерны, эспарцета, клевера, вики, из которых 20 штаммов были апробированы во Всесоюзном институте сельскохозяйственной микробиологии, девять из них переданы производству нитрагина. Как в зоне кислых, так и нейтральных почв применение клубеньковых бактерий дает существенные прибавки - 15.2 и 21.0 % урожая зерна гороха и фасоли. На эти штаммы получены авторские свидетельства [4, 5]. Штаммы депонированы в РЦДМ НАН Армении.

До начала 70-х годов в Армении существовал небольшой завод по производству бактериальных препаратов, который в числе других выпускал и бактериальный препарат „Нитрагин“ на основе активных штаммов

клубеньковых бактерий, предоставляемых нашей лабораторией. „Нитрагин“ успешно использовался и имел большой спрос как в Армении, так и в других республиках бывшего Советского Союза.

Коллекция клубеньковых бактерий начала создаваться в лаборатории азотфиксирующих микроорганизмов Сектора микробиологии с 1943-го года доктором биологических наук А.П. Петросян и пополнялась в течение многих лет силами научных сотрудников лаборатории под руководством доктора биологических наук профессора А.Д. Налбандяна.

С начала существования Коллекции по настоящее время культуры клубеньковых бактерий поддерживаются в основном с помощью периодических пересевов на агаризованной среде бобового экстракта, соответствующей их физиологическим потребностям. Несмотря на положительные стороны - постоянная доступность культур для работы, возможность непосредственного контроля за их чистотой и состоянием - метод трудоемкий, требующий своевременного пересева. Все это привело к поискам более экономичных методов длительного сохранения микроорганизмов.

Многие авторы уделяют особое внимание хранению культур микроорганизмов, в том числе клубеньковых бактерий, методом лиофилизации и под минеральным маслом с сохранением жизнеспособности и физиологической активности [1, 3, 12, 15]. Разработан эффективный способ лиофилизации активных штаммов различных видов клубеньковых бактерий. Были получены сухие лиофилизированные препараты клубеньковых бактерий гороха, фасоли, эспарцета, люцерны и сои. Азотфиксирующая активность лиофилизированных культур находилась на том же уровне, что и у периодически пересеваемых [6]. Известно также, что в стерильной почве клубеньковые бактерии сохранялись до 30-40 лет [16].

Более простой и доступный способ хранения - это хранение клубеньковых бактерий сои и вигны в стерильной воде в течение одного года. Однако быстрорастущие штаммы клубеньковых бактерий в тех же условиях не сохраняют жизнеспособность [14]. В литературе имеются данные о высокой адаптивной способности микроорганизмов к хлористому натрию, однако данных о хранении культур клубеньковых бактерий в физиологическом растворе не имеется [13]. В работе указано, что штаммы с различной вирулентностью хорошо росли на высоком солевом фоне - до 3%, сохраняя при этом вирулентность и активность. В лаборатории азотфиксирующих микроорганизмов нами разработан метод хранения культур клубеньковых бактерий в растворах хлористого натрия [7] и в гранулах хрупкой горной породы пемзы.

В настоящей работе представлены результаты длительного хранения коллекционных культур клубеньковых бактерий различными методами.

Материал и методика. Объектом исследования служили коллекционные штаммы клубеньковых бактерий разных видов: *Rhizobium faseoli* - 3 штамма, *Rhizobium meliloti* - 6 штаммов, *Rhizobium leguminosarum* - 3 штамма (горох), *Rhizobium simplex* - 4 штамма,

Bradyrhizobium japonicum - 4 штамма, выделенные из разных почвенно - климатических зон Армении, полученных из России и Венгрии, и из растений сои, привезенных из Грузии.

Поддержание жизнеспособности коллекции этих бактерий осуществляли следующими способами.

Хранение в стерильной почве. Штаммы клубеньковых бактерий выращивали на бобовом агаре. Выросшие культуры до начала стационарной фазы вносили в различные типы стерильных почв с увлажнением, примерно 60% от полной влагоемкости почвы. Затем пробирки с зараженной почвой выдерживали в термостате при 27-28° до воздушно-сухого состояния и далее хранили при комнатной температуре.

Хранение под вазелиновым маслом. Масло предварительно стерилизовали в автоклаве при 1атм, а затем для удаления влаги прогревали в сушильном шкафу при температуре не выше 150°. Клубеньковые бактерии, выросшие на столбиках в пробирках, заливали стерильным медицинским вазелиновым маслом слоем 1-1.5 см и хранили при комнатной температуре. (Масло не является абсолютным изолятором для воздуха, поэтому культуры под ним продолжают развиваться).

Хранение клубеньковых бактерий в физиологическом растворе. Культуры выращивали на косяках бобового агара в течение 48-72 ч при 26-27°. Затем культуры смывали с агара и готовили бактериальную суспензию в растворе хлористого натрия (0.85%), которую разливали в стеклянные стерильные ампулы по 2.5мл, запаивали и хранили при 5°.

Хранение в гранулах пемзы. Измельченную (размером с семя люцерны) пемзу стерилизовали дробно в автоклаве при 132.9° 45 мин 3-4 дня. До стерилизации в течение 24 ч и каждый день после стерилизации образцы пемзы увлажняли и держали при 36° до следующей стерилизации. Таким образом происходила полная стерилизация пемзы. Пемзу инокулировали густой суспензией клубеньковых бактерий.

Выживаемость клубеньковых бактерий определяли методом последовательных разведений на агаризованных пластинках. Культурально-морфологические свойства изучали на агаризованной питательной среде бобового отвара и минеральной среде следующего состава (г/%) : сахара 1.0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -0.05; K_2HPO_4 -0.05; NaCl -0.02; MgSO_4 -0.02; pH-7. Морфологию клеток изучали под световым микроскопом, физиолого - биохимические свойства определяли, используя ряд дифференциально - диагностических питательных сред [8, 17]. Усвоение различных источников углерода (29) и азота (11) изучали ауксанографическим методом [17]. Влияние продолжительности хранения на вирулентность и активность клубеньковых бактерий изучали в вегетационных и полевых опытах.

Вегетационные опыты были заложены в сосудах, со стерильным песком массой 4 кг, в трехкратной повторности. В песок вносили питательную среду Прянишникова с уменьшенной дозой азота до 25% от полной нормы, азотфиксирующую активность определяли методом Кьельдаля [11]. Вирулентность определяли по интенсивности образования клубеньков на корнях, эффективность - по воздействию клубеньковых бактерий на урожай. Уборку и учет урожая проводили в период цветения и образования плодов.

Выживаемость клубеньковых бактерий определяли через 3, 6, 12 месяцев хранения и далее каждый год. В статье приведены данные о сохранности клубеньковых бактерий в стерильной почве и под вазелиновым маслом через 1, 2, 8 лет, в физиологическом растворе - 1, 2, 20 и в гранулах пемзы - 1, 2, 18 лет.

Результаты и обсуждение. В лаборатории проведена работа по сохранению клубеньковых бактерий эспарцета, люцерны, фасоли в разных почвах: в черноземе, бурой почве, речном песке. Наблюдения за изменениями культурально - морфологических свойств клубеньковых бактерий показали, что они лучше всего сохранялись в черноземе, а в других субстратах подвергались изменениям [2]. В дальнейшем хранение культур проводилось только в черноземе. В табл. 1 приведены данные по сохранению жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий в черноземе. После 8 лет хранения в черноземе жизнеспособность 10-ти штаммов различных видов клубеньковых бактерий была сравнительно высокая. Как видно из приведенных данных, по мере

Таблица 1. Изменение жизнеспособности клубеньковых бактерий, хранимых в разных субстратах

Культуры	Штаммы	Количество жизнеспособных клеток, млрд															
		в 1 г почвы				в 1 г биомассы под вазелиновым маслом				в 1 мл физраствора				в 1 г пемзы			
		Нач.	Через, лет			Нач.	Через, лет			Нач.	Через, лет			Нач.	Через, лет		
			1	2	8		1	2	8		1	2	8		1	2	8
<i>R. phaseoli</i>	B-5682	2.9	1.6	0.96	0.61	2.9	2.8	2.7	1.2								
	B-5696	2.8	1.5	0.9	0.49	2.8	2.7	2.6	1.1								
	B-5700	2.6	1.2	0.81	0.46	2.6	2.0	1.8	1.0								
<i>R. legumino- sarum</i> группа	B-5601	6.4	4.3	3.85	1.82	6.4	6.0	4.1	2.0	2.6	1.6	0.1	+				
	B-5603	4.5	3.1	2.2	1.1	4.5	4.5	4.45	2.4	2.47	1.35	0.88	+				
	B-5604	4.4	3.2	2.9	1.2	4.4	4.4	4.2	2.5	2.45	1.55	0.95	+				
<i>R. meliloti</i>	B-5503	4.8	2.4	2.0	0.9	4.8	4.7	4.4	2.1					5.8	3.2	2.83	0.6
	B-5515	6.9	4.37	3.3	1.26	6.9	6.8	5.6	3.0					5.25	3.1	2.7	0.51
	B-5516	4.4	2.6	1.2	0.82	4.4	4.3	4.1	2.3					4.5	3.7	3.1	1.68
	B-5518	4.0	2.2	1.0	0.81	4.0	4.0	3.5	2.0					5.1	3.0	2.7	0.5
	B-5545	5.4	3.2	2.2	1.0	5.4	5.3	4.6	2.4					6.4	2.9	2.45	0.33
	2012 из ВНР	4.3	2.5	1.1	0.82	4.3	4.4	4.0	2.1					5.3	3.1	2.75	0.52
<i>R. simplex</i>	B-5877	7.0	4.56	3.4	0.92	7.0	6.9	6.1	3.1	3.6	1.2	0.1	-				
	B-5879	6.0	3.4	2.0	0.8	6.0	5.9	5.2	2.9	3.38	1.0	0.1	-				
	B-5880	5.9	2.2	1.1	0.7	5.9	6.0	5.5	2.7	3.39	1.3	0.085	-				
	B-5881	6.1	2.6	1.2	0.8	6.1	6.0	5.4	2.8	3.4	1.0	0.07	-				
<i>B. japonicum</i>	B-5783	8.5	5.1	4.7	1.8	8.5	8.5	7.6	3.6	4.2	1.85	0.8	+				
	B-5787	7.0	3.2	1.75	0.75	7.5	7.5	6.5	3.3	3.9	1.7	0.6	+				
	B-5789	8.3	5.0	4.5	1.7	8.3	8.4	7.4	3.2	3.68	1.3	0.65	+				
	B-5805	7.2	3.0	1.6	0.6	7.2	7.2	6.1	3.0	3.7	1.1	0.4	+				

Примечание: + количество клеток не определяли, - исследования не проводились, □ - хранение не проводилось

хранения наблюдается постепенное уменьшение числа жизнеспособных клеток. У некоторых видов, например у штаммов *B. japonicum* В - 5783, В - 5789, *R. leguminosarum* 2-х штаммов В - 5601, В - 5604, *R. meliloti* В - 5515, *R. simplex* В - 5877 снижение количества клеток меньше. Важное значение имеет большое количество жизнеспособных клеток после одного года хранения. В таких случаях через 8 лет число жизнеспособных клеток остается высоким - 0.92 - 1.82 млрд кл/г почвы.

У большинства штаммов клубеньковых бактерий, хранимых под вазелиновым маслом, процент живых клеток был высоким без пересевов в течение 8 лет, за исключением клубеньковых бактерий фасоли и гороха, (шт. В-5700 и В-5601), которые требовали пересевов после второго года хранения. При высеве штаммов на соответствующие питательные среды наблюдался обильный рост культур. Титр всех штаммов был довольно высоким. После второго года хранения культуры имели такие же показатели выживаемости, как и культуры, поддерживаемые пересевами на специфической агаризованной среде. В дальнейшем хранении выживаемость клубеньковых бактерий сохранялась в течение 8 лет с постепенным уменьшением количества клеток.

Данные по характеру изменений важнейших признаков культур клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета - выживаемость, сохранение способности к инокуляции растения-хозяина, к фиксации атмосферного азота и других физиолого-биохимических особенностей при 30-месячном хранении в 0.85%-ных и 2.0%-ных растворах хлористого натрия приведены в работе [7]. Выявлено, что клубеньковые бактерии гороха и сои могут быть поддержаны в жизнеспособном состоянии в течение 20-ти лет хранения в физиологическом растворе (0.85%-ный NaCl). Однако надо отметить, что процент выживших клеток был очень низким, но при этом не происходило изменений форм и размеров их по сравнению с исходными. К сожалению, процент выживаемости клубеньковых бактерий, сохраненных в физиологическом растворе, не устанавливался.

После хранения в течение 18-ти лет в гранулированной пемзе была проверена жизнеспособность 6-ти штаммов клубеньковых бактерий люцерны. Большинство исследованных штаммов сохранили высокое число жизнеспособных клеток - порядка 0.33-0.68 млрд кл/г пемзы.

Исследования показали, что клубеньковые бактерии, хранившиеся в разных субстратах, сохраняют способность к инокуляции растения - хозяина. В вегетационных опытах гранулированный нитрагин с пемзой спустя 18 лет сохранил свою вирулентность, оказывая благоприятное влияние на урожайность и азотфиксирующую активность люцерны. Растения, инокулированные клубеньковыми бактериями люцерны из гранулированной пемзы, имели крупные клубеньки и интенсивную зеленую окраску. Прибавка урожая (34.6 и 34.7; 21.9 и 21.6%) и содержание протеина в зеленой массе люцерны (9.8 и 10.0; 3.3 и 3.2%) находились на том же уровне, что и при инокуляции культурами бактерий, поддерживаемых пересевами на агаризованной среде

Таблица 2. Эффективность клубеньковых бактерий в симбиозе

Культуры	Штаммы	Прибавка урожая							Прибавка протеина, %						
		Зеленой массы, %				Зерна, ц/га			В зеленой массе				В зерне		
		на агариз. среде	в почве	под вазелин. маслом	в пемзе	на агариз. среде	в почве	под вазелин. маслом	на агариз. среде	в почве	под вазелин. маслом	в пемзе	на агариз. среде	в почве	под вазелин. маслом
<i>B. japonicum</i>	B-5783	46.7	45.2	46.6	-	9.0	8.9	9.1	7.7	7.5	7.6	-	8.6	8.4	8.6
	B-5787	42.8	41.2	42.6	-	5.1	5.0	5.1	6.1	6.0	6.2	-	7.6	7.5	7.6
<i>R. phaseoli</i>	B- 5696	27.3	27.0	27.2	-	7.6	7.7	7.7	2.9	2.8	3.0	-	3.1	3.0	3.0
	B-5700	30.0	29.8	30.0	-	6.0	5.9	6.0	2.5	2.4	2.6	-	2.7	2.7	2.8
<i>R. leguminosarum</i> , группа	B-5601	21.2	21.1	21.2	-	3.0	3.1	3.2	3.5	3.3	3.5	-	5.7	5.5	5.5
	B-5604	40.4	40.1	40.5	-	2.9	2.8	2.7	3.8	3.7	3.8	-	3.6	3.5	3.6
<i>R. meliloti</i>	B-5515	34.7	33.9	34.5	34.6				10.0	9.8	9.9	9.8			
	B-5516	21.6	21.5	21.7	21.9				3.2	3.0	3.2	3.3			

Примечание: - хранение не проводилось

(табл. 2).

После 8-летнего хранения клубеньковые бактерии фасоли, гороха и сои, хранившиеся в почве и под вазелиновым маслом, сохранили вирулентность и азотфиксирующую активность на том же уровне, что и периодически пересеваемые культуры. При этом урожай зеленой массы и зерна был одинаков.

Клубеньковые бактерии, хранившиеся в гранулах пемзы, в почве, под вазелиновым маслом и в растворе хлористого натрия сохраняют культурально - морфологические и физиолого-биохимические признаки без особых изменений. Колонии клубеньковых бактерий по форме, цвету, величине, структуре и консистенции не отличаются от исходных штаммов. Клетки клубеньковых бактерий не меняются в процессе хранения, но необходимо отметить, что часть клеток некоторых штаммов удлиняется, увеличивается в размере, а при посеве на специфические среды восстанавливает первоначальные морфологические свойства.

Результаты исследований показывают, что длительное хранение клубеньковых бактерий вышеуказанными методами не влияет на их способность усваивать те или иные источники углерода и азота, то есть все штаммы *Rhizobium* хорошо усваивают арабинозу, маннозу, глюкозу, фруктозу, галактозу, сахарозу, рамнозу. Усваивают также глицерин, маннит, лактозу, и слабо — декстрин, сорбит, раффинозу. Не усваивают сорбозу, дульцит, инулин, салицин. Из органических кислот хорошо усваивают малеиновую, янтарную, фумаровую, шавелевую, а лимонную, пировиноградную кислоты и шавелевокислый аммоний — слабее. Не усваивают сульфаниловую, стеариновую, фталевую, салициловую и бензойную кислоты. Исследованные штаммы усваивают аммонийные, нитратные, нитритные соли азота с различной интенсивностью. Все штаммы не разжижают желатин, восстанавливают нитраты, пептонизируют молоко, не растут на МПА и МПБ.

Таким образом, нами установлено, что для длительного хранения клубеньковых бактерий с сохранением их жизнеспособности, эффективности, культуральных и физиолого-биохимических свойств наиболее удобными и эффективными методами являются хранение в почве, под вазелиновым маслом и в гранулах пемзы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Загорье И.В., Князева В.Л., Шушанова А.В., Максимова Л.М. Микробиология, 50, 3, 561-565, 1981.
2. Киракосян А.В., Мелконян Ж.С., Овсепян Э.А., Мкртчян М.М. Вопросы микробиологии VI(XVI), 130-138, 1973.
3. Куплетская М.Б., Аркадьева З.А. Микробиология, 66, 2, 283-288, 1997.
4. Налбандян А.Дз., Аветисян В.А., Мелконян Ж.С., Матевосян Ф.С. АС №874724, 1981.
5. Налбандян А. Дз., Матевосян Ф.С., Аветисян В.А. АС №571467, 1977.

6. Налбандян А.Дз., Аветисян В.А. Биолог. журн. Армении, 41, 2, 147-149, 1988.
7. Налбандян А.Дз., Митевосян Ф.С. Биолог. журн. Армении, 41, 2, 162, 1988.
8. Определитель бактерий Берджи, 1, М., Мир, 1997.
9. Паркер К.А. "Импакт: наука и ов-во" 2, 47-58, 1987.
10. Петросян А.П. Экологические особенности клубеньковых бактерий в Армянской ССР. 1959.
11. Рубин Б.А. Большой практикум по физиологии растений. М. "Высш. школа", 1978.
12. Сборник. Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов. М., Наука. 1967.
13. Хайлова Г.Ф., Комар Р.Р., Ларыкова Т.П., Шильникова В. К., Строганов Б.П. Изв. Тимирязевской с/х Академии 4, 91-95, 1985.
14. Crist D.K., Wyza R.E., Nills K.K. Bauer W.D., Evans W.R. Appl. and Enviren Microbiol. 47, 5, 895-900, 1984.
15. Kirsop B.E., Doyle A. Maintenanse of microorganisms and cultured cells. A manual of laboratory methods. London, New York : Academ. Press, 1991.
16. Jensen H.L. Nature, 192, 4803, 1961.
17. Vinsent J.M., Nutman P.S., Shiner F.A. "Identif. Meth. Microbiol." London e.a., 49-69, 1979.
18. Wodicka B. Pflansenarzt, 34, 8, 74-75, 1982.

Поступила 17.IV.2003

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 579.66:15.577.152.5.017.22

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

А.А. ЭЛИАЗЯН, А.Х. ПАРОНЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Изучение ферментативной активности фототрофных бактерий, выделенных из разных экологических зон Армении, выявило ряд штаммов с аспартазной, аминоацилазной, глюкозоизомеразной и аспарагиназной активностью. Подобраны оптимальные условия культивирования и инкубирования, обеспечивающие ферментативную активность фототрофных бактерий. Уровень активности изучаемых ферментов наиболее высок у несерных пурпурных бактерий.

Установлено, что биосинтез указанных ферментов штаммоспецифичен, у штаммов одного вида наблюдается активность разного уровня.

Հայաստանի էկոլոգիական տարբեր գոտիներից անջատված ֆոտոտրոֆ բակտերիաների ֆերմենտային ակտիվության ուսումնասիրությունը բացահայտել է ասպարտազային, ամինոացիլազային, գլյուկոզիզոմերազային և ասպարագինազային ակտիվությամբ օժտված մի շարք շտամներ: Ընտրվել են ֆերմենտային ակտիվությունն ապահովող աճի և ինկուբացիայի օպտիմալ պայմանները: Ուսումնասիրվող ֆերմենտների ակտիվության մակարդակը ավելի բարձր է ոչ ծծմբային պուրպուր բակտերիաների մոտ:

Հաստատվել է, որ նշված ֆերմենտներին բնորոշ է շտամային առանձնահատկությունը և միևնույն տեսակին պատկանող տարբեր շտամներ ունեն ակտիվության տարբեր մակարդակ:

The fermentation activity of phototrophic bacteria isolated from different ecological zones of Armenia has been studied. The series of strains with aspartase, aminoacylase, glucosoisomerase and asparaginase activity have been revealed. The optimal cultivation and incubation conditions for biosynthesis and enzymatic activity of phototrophic bacteria have been investigated. The level of activity of the enzymes is most high in nonsulfur purple bacteria.

The biosynthesis of enzymes mentioned is strain specific and the strains of one species have various level of activity.

Фототрофные бактерии - аспартаза - аминоацилаза - глюкозоизомеразы - аспарагиназа

Возможности использования фототрофных бактерий (ФБ) весьма разнообразны. Способность к преобразованию солнечной энергии и росту на дешевых питательных средах дает возможность использовать их в биотехнологии как выгодные продуценты для получения ценных биологически активных соединений - витаминов, аминокислот, ферментов, полисахаридов, пигментов и т.д. [2, 4, 14, 16]. Биомасса ФБ может служить источником полноценного кормового белка с высокой степенью переваримости.

Несомненный интерес представляют выявление и изучение ферментов, участвующих в важных метаболических процессах и определяющих их

экофизиологию и видовое разнообразие. Среди ФБ описаны многочисленные штаммы с высокой гидрогеназной, каталазной, нитрогеназной активностью [4, 8, 15]. Однако весьма мало сведений о таких широко распространенных у других групп микроорганизмов ферментах, как аспартаза, ацилазы, глюкозоизомераза и аспарагиназа. Наша задача заключалась в выяснении наличия и изучении активности вышеуказанных ферментов у представителей ФБ, в том числе их алкалофильных форм, выделенных из разных экологических зон Армении.

Материал и методика. Объектом исследований были пурпурные бактерии родов *Rhodobacter* (14 шт.), *Rhodospseudomonas* (2 шт.), *Rhodospirillum* (1 шт.), *Chromatium* (2 шт.), *Ectothiorhodospira* (1 шт.), выделенных из различных экологических ниш Армении. Культуры, отличавшиеся высокой ферментативной активностью депонированы в Республиканском Центре депонирования микробов под номерами ИНМИА 6505-6510.

Несерные пурпурные бактерии выращивали на среде Ормеруда [9], а серные - на среде Пфеннига [11], в люминостате при освещении 1500-2000 люкс и температуре 28-30°. Рост культур оценивали по измерению оптической плотности суспензий при 660 нм на спектрофотометре СФ-26, а также определением веса сухой биомассы.

Аспартазную активность определяли методом Чибата и др. [7]. Ферментативную активность устанавливали по выходу образовавшейся аспарагиновой кислоты, рассчитанной на 100 мг сухой биомассы.

Аминоацилазную активность определяли методом Чибата и др. [6] и выражали в мкМ/ч/100 мг сухой биомассы.

Глюкозоизомеразную активность определяли по количеству образовавшейся фруктозы тиобарбитуровым методом [10] и выражали в мкг фруктозы/ч/мг сухой биомассы.

Аспарагиназную активность определяли методом Робертс и др. [13]. Активность выражали в Международных единицах (МЕ), что соответствует количеству L-аспарагиназы, необходимой для освобождения 1 мкМ аммония за 1 мин при 37°.

Результаты и обсуждение. **Аспартазная активность.** Фермент аспартаза (L-аспаратат аммоний лиаза, КФ 4.3.1.1) катализирует присоединение аммиака к фумарату с образованием L-аспаргата. Превращение фумарата в L-аспарагиновую кислоту с помощью микробного фермента аспаргазы давно служит основой для получения аспарагиновой кислоты в промышленных масштабах [7].

Известно, что наиболее активные продуценты аспартазы встречаются среди *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*. Слабой активностью или ее отсутствием характеризуются плесневые грибы, дрожжи, актиномицеты [12].

Проведенные нами исследования подтверждают, что большая часть ФБ проявляет аспартазную активность, среди них наибольшей активностью отличались *R.sphaeroides* шт. D-10, *R.rubrum*, шт. A-3, *R.palustris*, шт. D-6 (табл.1).

Выход аспарагиновой кислоты наибольший у *R.palustris*, шт. D-6. Наши дальнейшие исследования проводились с этим штаммом.

Известно, что для биосинтеза аспартазы у микроорганизмов существенное значение имеют источники питания, наличие в питательной среде биологически активных соединений, фаза роста, условия культивирования и др.

Нами было установлено оптимальное соотношение пептона и дрожжевого экстракта для накопления биомассы и ферментативной активности шт. D-6. При содержании в среде 2% пептона и 0,1% дрожжевого экстракта превращение фумарата в L-аспарагиновую кислоту составляло 84-86%. Экспериментально были установлены оптимальная температура, рН, концентрация фумарата, продолжительность инкубирования, изучалось влияние ионов металлов и других

факторов на степень превращения фумарата в аспарагиновую кислоту. Оптимальная температура роста и ферментативной активности 37°, концентрация фумарата аммония — 15%. Оптимальное значение pH — 8,5.

Таблица 1. Аспартазная активность ФБ

Штаммы	% L-аспарагиновой кислоты на 100 мг сухой биомассы	Штаммы	% L-аспарагиновой кислоты на 100 мг сухой биомассы
<i>R.sphaeroides</i> , шт. D-1	28,0	<i>R.capsulatus</i> , шт. D-1	18,5
шт. D-2	19,7	<i>R.palustris</i> , шт. D-6	34,0
шт. D-3	27,5	<i>R.rubrum</i> , шт. A-3	32,8
шт. D-5	16,6	<i>Chromatium sp.</i> , шт. Ал-1	19,1
шт. D-8	30,7	шт. C-1	12,6
шт. D-10	31,5	<i>Ectothiorhodospira</i> , Ал-2	22,1
<i>sp.</i> , шт. Ал-2	29,4		

Продолжительность инкубирования для эффективного превращения фумарата составляла 24 ч. Есть сведения, что в стационарных условиях продолжительность инкубирования активных продуцентов иногда достигает 48 ч [12]. Дальнейшее инкубирование ощутимых результатов не дало. Не замечено существенного различия в действии на активность аспартазы ионов Mg^{2+} , Mn^{2+} .

Толуолизация и ультразвуковая обработка клеток на дезинтеграторе почти не увеличили аспартазную активность.

Таким образом, несерные пурпурные бактерии впервые охарактеризованы нами как организмы, обладающие аспартазной активностью, среди них выявлены активные продуценты фермента.

Аминоацилазная активность. Одним из перспективных путей получения оптически чистых аминокислот является разделение рацемических смесей аминокислот с применением микробных ацилаз (КФ 3.5.1.14). В настоящее время исследования микробных ацилаз проводятся в целях поиска более активных продуцентов и определения характеристики ацилазной системы для выявления ее биологического значения и возможностей направленного биосинтеза [16].

Проведенные нами исследования показали, что большое число несерных пурпурных бактерий, выделенных из различных минеральных источников Армении, проявляет ацилазную активность в отношении нескольких ацилпроизводных аминокислот. Из изученных 40 штаммов ацилазной активностью обладали 27, а некоторые из них обладали достаточно высокой активностью к ацилпроизводным метионина, аланина, фенилаланина (табл. 2).

Для выявления оптимальных условий биосинтеза ацилаз и регуляции активности фермента были отобраны *R.capsulatus*, шт. A-5 и *R.palustris*, шт. D-6, отличавшиеся выраженной ацилазной активностью. Показано, что на выход биомассы и ацилазную активность благоприятно действуют некоторые органические добавки: пептон, кукурузный и дрожжевой экстракты. При наличии в питательной среде 1% дрожжевого экстракта образование аланина, шт. A-5 увеличивается на 32,6%, метионина, шт. D-6 — 28,9% (табл. 3). Заметно

увеличивается также биомасса. Такой же положительный эффект получается при наличии пептона.

Таблица 2. Ацилазная активность НПБ, выделенных из минеральных источников, мкМ аминокислоты/100 мг сух. биомассы/ч

Штаммы	Ацетил DL-				
	метионин	аланин	серин	фенил-аланин	триптофан
<i>R.sphaeroides</i> , шт. D-1	55,2	60,7	21,5	99,8	12,5
шт. D-2	44,6	56,6	16,1	86,7	8,4
шт. D-3	68,7	35,5	6,9	57,8	3,1
шт. D-8	59,5	42,0	12,2	56,5	7,9
шт. D-10	58,6	40,5	11,9	55,5	7,3
<i>R.capsulatus</i> , шт. D-4	87,5	110,0	8,7	122,4	5,6
шт. A-5	120,7	130,2	53,5	130,2	2,9
<i>R.palustris</i> , шт. D-6	126,3	92,7	84,3	108,9	10,3
<i>R.rubrum</i> , шт. A-3	38,8	118,7	33,4	90,0	3,7
<i>R.sulfidophilus</i> , шт. Ш-1	41,2	32,7	12,2	110,4	4,8

Таблица 3. Влияние питательной среды на рост и ацилазную активность, мкМ аминокислоты/100 мг абсолютно сухой биомассы/ч

Добавки к питательной среде, 1%	<i>R.capsulatus</i> , шт. D-4		<i>R.palustris</i> , шт. D-6	
	рост, OD ₆₆₀ нм	аланин	рост, OD ₆₆₀ нм	метионин
Пептон	0,51	148,2	0,47	156,0
Дрожжевой экстракт	0,48	152,7	0,40	149,9
Кукурузный экстракт	0,35	80,1	0,28	101,2
Контроль	0,30	115,2	0,23	121,3

При изучении влияния ацилпроизводных аланина и метионина в качестве индукторов в количестве 0,01% повышение ацилазной активности не отмечается, а рост биомассы несколько угнетается.

Известно, что ионы некоторых металлов, особенно кобальта, в большинстве случаев стимулируют ферментативную активность микроорганизмов. Оптимальная концентрация Co^{2+} для получения метионина, шт. D-6 — 10^{-3}M , для аланина, шт. A-5 — 10^{-2}M . Ионы других металлов угнетают ацилазную активность указанных штаммов, особенно заметное ингибирующее действие оказывают ионы Cu, Zn, Ni, менее — Ca, Fe, Mn (табл. 4).

Максимальная ацилазная активность проявляется в начале стационарной фазы роста, при 48 ч культивирования, максимальный рост биомассы происходит на четвертые сутки выращивания. Оптимальное значение pH для деацилирования отдельных аминокислот 7,5-8,5.

Несколько повышается ацилазная активность при обработке клеток ФБ толуолом или ацетоном в течение 5-10 мин. Предынкубирование ФБ с разными твинами в концентрации 0,1% приводит к положительным результатам.

Таблица 4. Влияние ионов металлов на ацилазную активность, мкМ/100 мг сух. биомассы/ч

Ионы металлов, 10 ⁻³ М	<i>R.palustris</i> , шт. D-6	<i>R.capsulatus</i> , шт. D-4
	метионин	аланин
Cu	32,3	41,5
Mg	49,7	50,0
Ca	53,6	38,9
Zn	28,0	30,2
Mn	88,7	98,9
Fe	82,5	80,1
Co	130,8	145,3
Ni	30,0	38,0
Контроль	100,8	120,3

Наиболее заметное действие оказывают твин-40 и твин-80.

Таким образом, согласно полученным данным, многие изученные нами ФБ обладают высокой аминокислотной активностью широкого спектра действия, и это позволяет более активно изучать эту группу ФБ с целью поиска новых перспективных продуцентов аминокислот.

Глюкозоизомеразная активность. Фермент глюкозоизомеразы (D-глюкоз-6-фосфаткетол-изомеразы, КФ 5.3.1.9) используется в производстве сахаристых продуктов для превращения глюкозы во фруктозу. Глюкозоизомеразы были обнаружены у ряда бактерий, актиномицетов [3].

Таблица 5. Глюкозоизомеразная активность ФБ

Штаммы	Активность ФБ, мкг фруктозы/ч/мг сух. биомассы	Штаммы	Активность ФБ, мкг фруктозы/ч/мг сух. биомассы
<i>R.sphaeroides</i> , шт. A-8	17,0	<i>R.capsulatus</i> , шт. D-4	10,9
шт. A-10	18,6	шт. A-5	9,5
шт. A-16	16,3	<i>R.palustris</i> , шт. D-6	8,3
шт. D-2	18,1	шт. A-7	7,5
шт. D-10	24,9	<i>R.rubrum</i> , шт. A-3	20,0

Изученные нами ФБ в той или иной степени проявили способность к изомеризации глюкозы во фруктозу. Среди них были обнаружены культуры с достаточно высокой ферментативной активностью (табл. 5).

Глюкозоизомеразной активностью особенно отличалась культура *R.sphaeroides*, шт. D-10.

Максимальная активность фермента наблюдается у 48-часовой культуры, т.е. в начале стационарной фазы роста.

Скорость ферментативного превращения глюкозы во фруктозу зависит от начальной концентрации глюкозы в реакционной смеси. Нами были испытаны три концентрации глюкозы - 1, 2 и 3 М, оптимальной является 1 М.

У большинства продуцентов глюкозоизомеразы отличается относительной

термостабильностью, что позволяет вести процесс при температуре, исключающей возможность заражения посторонней микрофлорой. Нами были выбраны три режима температуры - 40°, 60° и 80°. Активность фермента при 60° и 80° находилась почти на одном уровне - 31,0 и 32,3 мг фруктозы/ч/мг сухой биомассы соответственно, что указывает на термостабильность фермента ФБ.

Оптимальное значение pH проверяли в зоне 6,0-9,0. Высокую глюкозоизомеразную активность клетки проявили при pH 7,0.

Таким образом, в результате проведенных исследований у ФБ была обнаружена глюкозоизомеразная активность, что весьма важно для метаболизма углеводов, которые для них могут служить одновременно и источником углерода, и донором электрона. Наиболее активной оказалась культура *R.sphaeroides*, шт. D-10.

Аспарагиназная активность. L-аспарагиназа (L-аспарагинамидогидролаза, КФ 3.5.1.1) является гидролизующим ферментом, который участвует в гидролизе аспарагина с образованием аспарагиновой кислоты. Фермент, выделенный из *Escherichia coli*, оказался эффективным лекарственным препаратом при лейкемии, при инфицировании в кровь он снижает поступление в опухолевые клетки экзогенного аспарагина, необходимого для их быстрого роста. Однако под действием этого фермента поражаются также ткани с низкой активностью аспарагинсинтетазы, что ограничивает клиническое использование аспарагиназы. L-аспарагиназа играет важную роль также в метаболизме аминокислот у микроорганизмов.

Фермент L-аспарагиназа у ФБ мало изучен [13]. Нами было проведено сравнительное изучение аспарагиназной активности ФБ, выделенных из минеральных источников и солончаковых почв Армении. Высокая ферментативная активность отмечена у НПБ (табл. 6), а низкая - у серных фотобактерий.

Таблица 6. Аспарагиназная активность НПБ

Штаммы	Активность, МЕ/г сух. биомассы
<i>R.sphaeroides</i> , шт. D-1	6,93
шт. D-2	5,10
шт. D-3	22,50
шт. D-8	15,00
шт. D-9	15,30
шт. D-10	15,80
<i>R.capsulatus</i> , шт. D-4	17,78
шт. A-5	14,2
шт. D-5	12,05
<i>R.palustris</i> , шт. D-6	7,73
шт. A-7	5,85
<i>R.rubrum</i> , шт. A-3	19,75

Изучали также влияние ряда факторов на активность ФБ, а именно температуру, pH, индукцию субстратом, длительность инкубации. В опытах по

индукции аспарагиназы источники углерода и азота в среде заменяли L-аспарагином (3 г/л).

Показано, что оптимальная температура для проявления ферментативной активности у шт. Д-3 — 52°, она с незначительными изменениями сохраняется до 58°, затем резко падает. Активность для шт. А-3 — 45°. Оптимальный pH для шт. Д-3 — 8,8, а для шт. А-3 — 8,5.

Данные исследований показали, что на индуктивной среде аспарагиназная активность увеличивается почти в 2,5. При повторных индукциях она опять значительно увеличивается, однако после четырехкратной индукции резко снижается.

Заметное влияние на аспарагиназную активность оказал возраст посевного материала. Активность была намного выше у 48-часовых культур (табл. 3).

Таким образом, основываясь на полученных данных, можно заключить, что в оптимальных условиях роста и биосинтеза фермента изучаемые культуры могут проявлять достаточно высокую аспарагиназную активность.

Следует отметить, что ферментативная активность у ФБ штаммоспецифична, и у штаммов одного вида наблюдается активность разного уровня. Благодаря активной ферментативной деятельности, фототрофные бактерии эффективно адаптируются к окружающей среде и способны существовать в разных экологических нишах. Различия в ферментативной активности культур являются результатом влияния экологических факторов, с помощью которых и реализуются видовые и штаммовые различия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Африкян Э.К. Микробиологический синтез, I, 1, 1-7, 1967.
2. Сергеев А.В., Самохвалов Т.И., Вакулова Л.А., Шишкина М.Я. Материалы симпозиума, М., Онкологический научный центр РАМН, 4-8, 1998.
3. Улезло И.В., Тулеулова Е.Т., Безбородов А.М. Прик. биохимия и микробиология, 16, 4, 561-568, 1980.
4. Цыганков А.А., Лауриновичене Т.В., Гоготов И.Н. Прик. биохимия и микробиология, 33, 1, 24-27, 1997.
5. Элиазян А.А., Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биотехнология, 6, 51-54, 1997.
6. Chibata I., Kisumi M., Yamada S. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 22, 1, 24-31, 1958.
7. Chibata I., Ishikawa T., Tosa T. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 24, 1, 31-36, 1960.
8. Kitai K., Jaoping I., Gary P. J. Bacteriol., 181, 3, 1698-1702, 1999.
9. Ormerod J.G., Ormerod K.S., Gest H. Arch. Biochem. Biophys., 94, 2, 449-463, 1991.
10. Percheron F. Compt. Rend. Acad. Sci., 255, 2221-2225, 1962.
11. Pfennig N. Arch. Mikrobiol., 42, 1, 90-93, 1962.
12. Plachy I., Sikyta B. Folia Microbiol., 22, 3, 440-444, 1997.
13. Roberts J., Burson G., Hill J. J. Bacteriol., 95, 6, 2117-2123, 1968.
14. Straub K., Rainey f., Widdel F. Int. J. Syst. Bacteriol., 49, 729-735, 1999.
15. Terzenbach D.P., Blaut M. Arch. Microbiol., 169, 6, 503-508, 1998.
16. Tsubocura A., Hisashi Y., Mikihiro T., Takashi K. Bacteria for production of carotenoids. Patent USA 5858761, 1997.

Поступила 14.X.2003

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 612.821

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОГО ПОВЕДЕНИЯ

В.А. ТУМАНЯН, И.Н. КОВАЛЬ

Институт зоологии НАН Республики Армения, 375014, Ереван

In order to discover mutual influence of cortex and hippocampus during the animals have got the avoiding habit were investigated some models of cell activity and found potential of each structure to the stimulus of other.

The maximum increasing of cortex influence on hippocampus was observed during the stage of stabilization of habit through the maximum influence of hippocampus on cortex index and is at the early stage of learning.

Нейронная активность — взаимодействие — поведение

Изучение явлений, связанных с процессом организации того или иного поведенческого акта, показало, что любая форма интегративной деятельности мозга предполагает взаимодействие элементов нервной системы. Поэтому исследования высшей нервной деятельности в последние годы приобретают все более системный характер, а проблема нейрофизиологических механизмов обеспечения адаптивного поведения и изучение внутрицентральных взаимоотношений особенно актуальны.

В нашей работе предпринята попытка приблизиться к пониманию некоторых аспектов данной проблемы путем выяснения характера взаимоотношений нейронов двух филогенетически различных образований мозга в динамике формирования поведенческой реакции.

Материал и методика. Исследования проводили на частично ограниченных в движениях кроликах в условиях хронического опыта. Поведенческой моделью служил инструментальный условно-избегательный рефлекс. Использовали методику одновременной регистрации внескелеточной импульсной активности двух нейронов, расположенных в разных структурах мозга [4].

Для выяснения взаимных влияний дорсального гиппокампа и височной коры в процессе приобретения животным избегательного навыка исследовали ряд показателей клеточной активности и вызванного потенциала каждой из этих структур на стимуляцию другой [3, 5].

Были использованы различные методы статистической оценки импульсной активности одиночных клеток, их вызванной активности и совместной деятельности пар нейронов [3].

Результаты и обсуждение. Результаты анализа взаимосвязи фоновой и вызванной активности гиппокампа и височной коры и динамики нейрональных реакций исследуемых формаций мозга в отдельности и сравнении друг с другом в процессе приобретения звуковым раздражителем сигнального значения выявили некоторые закономерности между стадией упрочения приобретаемого навыка и характером межнейронных взаимоотношений. По мере стабилизации навыка возрастает корреляция импульсных разрядов нейронов исследуемых структур (табл. 1).

Таблица 1. Коэффициент корреляции одновременно зарегистрированных нейронов гиппокампа и височной коры в процессе обучения

Этапы выработки условно-избегательной реакции	Коэффициент корреляции
Исходное состояние	$0,18 \pm 0,05$
1-30 сочетаний	$0,26 \pm 0,06$
31-100 сочетаний	$0,29 \pm 0,08$
101 и более сочетаний	$0,49 \pm 0,10$

В процессе формирования нового навыка было проведено сопоставление динамики влияния височной коры на гиппокамп и гиппокампа на височную кору. Повышение процента проявляемости ответа клеток, укорочение латентных периодов импульсных ответов, укорочение латентных периодов и уменьшение продолжительности волны вызванного потенциала свидетельствуют об усилении как корково-гиппокампа, так и гиппокампа-корковых влияний в процессе учения. Однако если максимальное усиление влияния височной коры на гиппокамп наблюдалось на этапе стабилизации вырабатываемого навыка, то максимальная выраженность влияния гиппокампа на височную кору соответствовала ранним этапам формирования избежательной реакции.

На основании полученных данных можно предположить, что на ранних этапах обучения гиппокамп принимает более деятельное участие в механизмах оценки степени достижения положительного результата и активизирует височную кору, регулируя в ней функциональные перестройки, что повышает эффективность ее деятельности по обработке поступающей информации и способствует оптимизации формирования временных связей. Когда же рефлекс упрочен или автоматизирован и временные связи сформированы, более выраженным становится влияние височной коры на нейроны гиппокампа, что отражает поступление информации о структуре временных связей из коры в гиппокамп и, возможно, задействованность гиппокампа в механизмах памяти. Такое представление роли гиппокампа в процессе обучения согласуется с полученными нами данными в других экспериментальных условиях, где показано участие гиппокампа в организации специальных форм кратковременной памяти, когда он обеспечивает избирательное извлечение прошлого опыта, необходимое в условиях формирования данного поведенческого акта [1, 2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Коваль И.Н., Саркисов Г.Т., Гамбарян Л.С. Септо-гиппокампальная система в организации поведения. Ереван, из-во АН Арм.ССР, 127с, 1986.
2. Саркисов Г.Т., Коваль И.Н., Туманян В.А. Биолог. журн. Армении, 52, 3-4, 1996.
3. Туманян В.А. Активность нейронов гиппокампа и височной коры в процессе обучения. Ереван, изд-во АН Арм.ССР, 189, 1988.
4. Туманян В.А. В кн.: Глубинные структуры мозга и поведение. Ереван, изд-во АН Арм.ССР, 141-146, 1989.
5. Tumanyan V.A. Distinctive features of phylogenetically different formations interaction in rabbit cerebrum during the formations of condition - reflex behavior. Third conference of the Armenian International Brain Research Organization (IBRO) association. Yerevan, p. 72, 2000.

Поступила 30.VII.1999

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 91.9.599.423.426

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДА И ВОЗРАСТА РУКОКРЫЛЫХ ПО ВНЕШНИМ МОРФОЛОГИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ

Э.Г. ЯВРУЯН, В.Т. АЙРАПЕТЯН, Г.Ю. ПАПОВ

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии, 375025

It is shown that determination of *Chiroptera* age and species affiliation is possible by some anatomical-morphological properties (hair color, condition of genitals, extent of teeth rub). The form of veins of wing membrane has also specific "structure" and can be used for the taxonomical investigations.

Летучие мыши - определение возраста вида - жилкование - крыловая перепонка

Практика показала, что при полевых работах, а затем и при обработке накопленного материала особо важно знать возраст исследуемого экземпляра того или иного вида летучих мышей. От достоверности этих данных зависят определенные выводы, касающиеся активности, форм и рациона питания, динамики численности, выбора мест зимовок, частоты посещения убежищ, путей кочевков, миграций и многое другое, что влечет за собой необходимость повторных (порой неоднократных) отловов. Существуют различные методы определения возраста - мечение, кольцевание, а также определение по головным слоям на срезах плечевой кости и зубах. Дополняют исследования в этой области определение степени стертости зубов, окраски волос, состояния наружных половых признаков и т. д.

Что касается определения вида по форме жилкования, то этот метод предлагался еще в 1968 - 1969 годах Паниной, Панютиным и Яблоковым [1, 2]. На армянских и средиземноморских (Алжир, Тунис, Марокко) видах метод апробирован Явруяном, Саакяном, Меграбяном [3, 4, 5].

Целью настоящего исследования является апробация методов определения возраста, а также видовой принадлежности распространенных в Армении летучих мышей по ряду морфологических признаков.

Материал и методика. Материалом служили летучие мыши, отловленные в различных регионах Армении. Для определения возраста отловленных особей были использованы такие морфологические признаки как состояние зубов, волосяного покрова и наружных половых органов, а для определения видовой принадлежности — форма жилкования летательной перепонки.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования позволяют выделить следующие возрастные группы:

Новорожденные (до 1 года) Зубы отсутствуют (сем. *Rhinolophidae*), если

они имеются, то мелкие, слабые (сем. *Vespertilionidae*, *Mollosidae*). Клыки недоразвиты, резцы мелкие, острые. Волосы на голове, по позвоночнику, у основания крыльев тонкие, редкие, светло-палевые или рыжие. Чаще все тело на первых порах жизни вовсе лишено волосяного покрова (*Rhinolopus fortunequinum*, *R. hipposiderus*, *Myotis blythi*, *Pipistrellus pigmaeus* и т. д.). Пенис заметен и телесного цвета.

Молодые (1-2 года). Молочные зубы, а затем и основные имеются у всех видов, причем клыки в этом возрасте тонкие и очень острые. Волосы на верхней части тела и частично по бокам варьируют от светло-серого до серого (*Plecotus austriacus*, *Miniopterus schreibersi*, *Rhinolophidae* - все 5 видов, *Pipistrellus pigmaeus*, *P. pipistrellus*), серо-рыжие у *Myotis blythi*, *P. kuhli*, серо-бурые у *M. enarginatus*, *Barbastella leucomelas*. Пенис у *R. hipposideros*, *R. ferrumequinum* и *R. mehelyi* в этом возрасте телесного цвета и тонкий, его ширина соответственно 0,7, 1,0 и 2-2,5 мм, а длина - 3,2, 5,0 и 7,5 мм. Соски у самок практически незаметны, за исключением тех видов, которые на втором году жизни могут осемениться или даже родить.

Зрелые (от 3 до 7 лет). Постоянные зубы есть, клыки сравнительно толстые у основания и острые на вершине. В окрасе меха устанавливаются типичные для вида цвета - серые, палевые, рыжие, двух- или многоярусность в мехе. Пенис у большинства видов теряет телесный оттенок и покрыт отдельными волосками или пухом. Соски самок белые или телесного цвета.

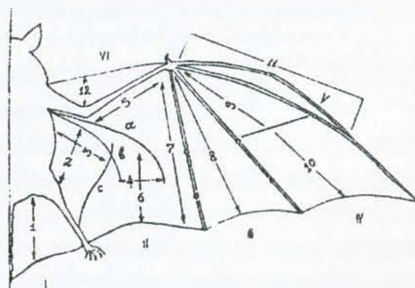


Рис. Формы жилкования летательной перепонки летучих мышей.

Число сухожилий:

Зона I. 1. по средней линии зоны I.

Зона II. 2. от бедра до основного сухожилия [ВВ].

3. от боковой поверхности тела до основного [берцового] сухожилия [СС].

4. между вертикальной частью основного сухожилия [ВВ] и аналогичной частью основного сухожилия [АА].

5. вдоль предплечья. Учитываются все сухожилия по местам прикрепления. Сухожилия, разделяющиеся вилкообразно перед прикреплением, учитываются как два самостоятельных.

6. между свободным краем перепонки (не считая краевого) и горизонтальной частью основного сухожилия [АА], считается по центру участка, перпендикулярно к краю перепонки.

7. прикрепляющихся к пятому пальцу.

Зона III. 8. Число сухожилий между пятым и четвертым пальцами, считая по центру зоны.

Зона IV. 9. между метакарпальными косточками (от вершины зоны до сухожилия фаланг), считая по центру зоны.

10. между фалангами четвертого и третьего пальцев (от сухожилия, соединяющего проксимальные суставы первых фаланг, до свободного края перепонки).

Зона V. 11. Форма и длина второго пальца.

Зона VI. 12. Число сухожилий по средней линии зоны VI.

Пожилые (7 и более лет). Клыки теряют естественный цвет, темнеют и в разной степени притупляются (у 17-летнего самца *M. blythi* клыки были стерты почти до уровня десен). Волосы сравнительно длинные и темные у хребта и светлее по бокам и на брюхе (исключение - полностью темнеющие или, наоборот, светлеющие особи). Соски сравнительно темнее, а размер пениса у тех же животных (см. "молодые") соответственно больше: ширина - 1, 2, 4 мм, длина - 4, 9, и 11 мм.

Исследования форм жилкования летательной перепонки крыла отловленных летучих мышей подтвердили вывод о том, что они имеют видовую "конструкцию" и могут быть использованы для морфологических и таксономических исследований. Для видов, обитающих на территории Армении, наблюдаются следующие формы жилкования (рис.).

Многие виды летучих мышей Армении являются редкими и исчезающими. Благодаря вышеизложенным методам определения по морфологическим признакам возраста и видовой принадлежности летучих мышей, несомненно, можно избежать лишних „жертв“ во время исследовательских работ, поскольку после снятия необходимых промеров летучие мыши могут быть выпущены в природу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яблоков А.В., Панютин К.К., Панина Г.А. Сб. науч. тр. Инст. биол. развития АН СССР, 1-23, М., 1968.
2. Яблоков А.В., Панина Г.А. Сообщение II, рукопись, 1969.
3. Явруян Э.Г., Меграбян В.И. Мат-лы конф. научных работ ЕГУ. 78-84, Ереван, 1970.
4. Явруян Э.Г., Саакян Е.Г. Мат-лы конф. молодых науч. раб. ЕГУ, 198-201, Ереван, 1978.
5. Явруян Э.Г. Доктор. дисс., Киев, 1990.

Поступила 10.X.2002

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 635.224

БИОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РОДА СУМАХ В АРМЕНИИ

Г.Г. МАНАСЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

In the following Botanical gardens: Yerevan, Vanadzor and Sevan the morpho-physiological characteristics of the genus *Rhus* L. have been studied. It has been defined that many species of this genus is possible to use in the greens building of the desert and half desert zones of the Republic of Armenia.

Интродукция - рост - развитие

В озеленении Армении, кроме аборигенных, большое значение имеют иноземные растения. В этом отношении большой интерес представляет род сумач - *Rhus* L. (*Anacardiaceae*) из Северной Америки, многие представители которого отличаются высокой декоративностью и хозяйственно ценными свойствами. В естественных условиях этот род охватывает в основном юго-восточные штаты США. Обладая значительной эколого-фитоценотической амплитудой, эти растения могут успешно произрастать в различных почвенно-климатических условиях Армении.

Изучение адаптивных реакций фотосинтетического аппарата и его непосредственного участия в процессах роста растений, произрастающих в различных экологических условиях, является важнейшей задачей в проблеме интродукции. Учитывая это положение, мы исследовали содержание различных форм хлорофилла, активность фотосинтеза и энергию роста некоторых видов сумач, интродуцированных в Ереванском (1250м над ур.м), Ванадзорском (1450м) и Севанском (1950м) ботанических садах, отличающихся различными почвенно-климатическими условиями.

Материал и методика. Объектами наших исследований явились 6 видов (*Rhus aromatica* Ait., *R. taphina* L., *R. trilobata* Nutt., *R. toxicodendron* L., *R. glabra* L., *R. radicans* L.) и 3 разновидности (*R. aromatica* f. *illinoensis* (Greene) Rehd., *R. taphina* f. *laciniata* Wood., *R. taphina* f. *dissecta* Rehd.) рода *Rhus*, произрастающих в Ереванском ботаническом саду на экспозиционном участке Северной Америки. В Ванадзоре и Севане интродуцирован один вид - *R. aromatica* Ait.

Фенологические наблюдения проводили по общепринятой методике, разработанной в Главном ботаническом саду АН СССР (1975). Одновременно изучали годичный прирост боковых и верхушечных побегов [4].

Интенсивность фотосинтеза определяли методом Сакса по изменению сухой массы единицы площади листьев, основанным на учете прибавки массы листа за счет продуктов фотосинтеза. Содержание хлорофилла и прочность его связи с липопротеидным комплексом (ЛПК) определяли методом Осиповой [5], содержание воды в листьях - рефрактометрическим методом [6]. Полученные результаты статистически обрабатывали [3].

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что содержание слабо- и прочносвязанных форм хлорофилла в листьях изученных растений варьирует в больших пределах. Причем, наибольшим содержанием слабосвязанной с ЛПК формой выделяются кустарники, а наименьшим - деревья. Так например, в условиях Ереванского ботанического сада максимальным содержанием хлорофилла отличился *R. aromatica* (0,82 слабо- и 5,79мг/г прочносвязанной формой), минимальным - *R. tuphina* (0,41 и 2,58мг/г).

Сравнительное изучение показало (таблица), что условия Ванадзорского ботанического сада более благоприятны для синтеза и накопления хлорофилла и его слабосвязанной с ЛПК формы в листьях у *R. aromatica*. Однако в условиях Севана содержание зеленых пигментов в листьях снижалось, а связь их с ЛПК не ослаблялась. Известно, что в неблагоприятных условиях виды характеризуются высоким содержанием прочносвязанной формы хлорофилла [2].

Таблица. Биоэкологические особенности рода сумах в ботанических садах Армении

Показатели	Ботанические сады		
	Ереван	Ванадзор	Севан
Климат:			
Осадки за год, мм	317	571	535
Среднегодовая темп. воздуха, °С	12.1	7.5	4.8
Безмороз. период, дни	217	174	161
Вегетация:		<i>R. aromatica</i> Ait.	
начало (набухание почек)	20.IV	27.IX	
конец	5.XI	29.X	26.X
Цветение			
начало	10.V	21.V	15.VI
конец	8.VI	14.VI	29.VI
Продолжительность, дни:			
вегетация	200	186	169
цветение	30	25	15
феноградиент		6.0	5.4
Продолжительность роста:			
начало	5.V	15.V	2.VI
число дней	80	90	47
Прирост, см:			
годовой	20	32	14
суточный	0.25	0.35	0.29
Водный режим, %:			
общая вода	72.0	73.6	68.7
свободная	48.4	49.4	41.2
связанная	23.6	24.2	27.5
Хлорофилл:			
слабосвязанный, мг/г	0.82	0.92	0.66
прочносвязанный, мг/г	5.79	6.18	4.69
фотосинтез, мг/дм²час	11.2	11.5	7.6

Более примечательными оказались различия в интенсивности фотосинтеза листьев. Независимо от экологических условий среды в Ереванском ботаническом саду максимальная фиксация CO₂ наблюдалась у

R. aromatica (11,2 мг/дм².час), минимальная - у *R. tuphina* [4]. Характерной особенностью кустарников явилось то, что они энергичнее ассимилировали СО₂, чем деревья, что свидетельствует об их лучшей приспособленности в данных условиях и эволюционной продвинутости [1].

Как видно из табл., содержание общей и свободной воды в листьях *R. aromatica* больше в Ереванском и Ванадзорском ботанических садах (при условии орошения), чем в Севанском, где существенно возрастает содержание связанной воды.

В отличие от Еревана, в условиях Ванадзора и Севана существенно сокращается продолжительность вегетационного периода и цветения. Если в Ереванском и Ванадзорском садах эти фазы составляли соответственно 200, 30 и 186, 25 дней, то в Севанском 169 и 15 дней.

Одним из интегральных показателей адаптации интродуцентов является рост. В этом отношении выявлена положительная корреляция между интенсивностью фотосинтеза и ростом растений.

Процессы роста интенсифицировались в Ванадзорском ботаническом саду и крайне замедлялись в Севанском, что свидетельствует об эффективном использовании ассимилятов в процессах роста и накопления органической массы интродуцентов в умеренных условиях Ванадзора. Тут, несомненно, сказалось действие температурных условий среды.

Таким образом, одни и те же представители североамериканской дендрофлоры проявляют неидентичную адаптивную реакцию хлорофиллоносного аппарата и его деятельности к изменяющимся экологическим условиям, что отражается на энергии роста.

Полученные данные показывают, что интродуценты рода сумач при условии орошения можно успешно использовать в озеленении пустынно-полупустынных зон Армении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давтян В.А., Манасян Г.Г. Тез. докл. XX науч. сессия по адап. растений. Совет бот. садов Закавказья, Ереван, 44-45, 1984.
2. Кушниренко М.Д. В кн.: Пробл. засухоуст. раст., М., 165-182, 1978.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 343с., 1973.
4. Молчанов А.А., Смирнов В.В. Методика изучения прироста древесных растений. М., 100с., 1967.
5. Осипов О. ДАН СССР, 54, 8, 1947.
6. Сказкин Ф.Д. и др. Практикум по физиологии растений. М., 339 с., 1958.

Поступила 23.VII.2002

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 582.287:615.771.7

ИССЛЕДОВАНИЕ КАЗЕИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ

Н.Г. ГАРИБЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники, 375025

Caseinolytic activity (CLA) of 17 basidiomycete mushroom cultures was carried out by coagulation and peptonization tests on the de-fatted milk. In tested concentrations cultural liquid (CL) and mycelial extract (ME) possessed different degrees of activity. The tested ME samples possessed weaker activity compared to CL samples. Significant CLA of the selected species (*Suillus luteus*, *Flammulina velutipes*, *Lepista personata*, *Pleurotus ostreatus*) make them suitable for further screening to obtain new mushroom-based enzymatic bioproducts, which could be used in food and medical industry.

Базидиальные макромицеты — казеинолитическая активность — экстракт мицелия — культуральная жидкость

Одной из проблем современной биотехнологии является поиск новых источников биоактивных метаболитов и ферментов среди биологических организмов. В этом отношении грибы, в частности макромицеты (базидиальные и сумчатые), представляют особый интерес [1, 5, 6, 12].

Грибы синтезируют различные группы ферментов, однако наибольший интерес представляют ферментные системы базидиомицетов, катализирующие превращение полисахаридов, белков и лигнина (целлюлазы, оксидоредуктазы, гидролазы, протеиназы, пектиназы, липазы и др.) [5].

Проблема исследования грибных протеиназ является сравнительно новой. Установлено, что базидиальные макромицеты синтезируют аспартильные, сериновые, тиоловые и металлопротеиназы, которые в различных соотношениях встречаются у грибов из других систематических групп. Исследование их взаимосвязей и физико-химических свойств установило близость грибных протеиназ с растительными и бактериальными. Однако протеолитической (молокосвертывающей, казеинолитической, тромболитической, фибринолитической) активностью обладают в основном аспартильные протеиназы [7, 10].

Богатым набором внеклеточных протеаз обладают представители афиллофоральных (сем. *Polyporaceae*) и агарикальных (сем. *Tricholomataceae* и *Coprinaceae*). Протеолитические ферменты некоторых базидиальных макромицетов обладают выраженной молокосвертывающей и казеинолитической активностью (МСА, КЛА) [6, 9, 11].

Имеются сведения о практическом применении этого свойства грибов. Так, *Kuehneromyces mutabilis* с древних времен используется народами Кавказа вместо пепсина в сыроварении, а *Panus conchatus* в качестве заменителя сычужного фермента успешно применяется в молочном производстве при выработке сыров. Полученный из сыроежки *Russula decolorans* фермент руссулин также нашел широкое применение при изготовлении сыров, заменив дефицитный биопрепарат реннин или получаемый из желудков телят сычужный фермент. Отобраны штаммы сапротрофного дереворазрушающего гриба *Irpex lacteus*, образующего протеиназы молокосвертывающего действия, способные заменить сычужный фермент [2, 3, 5].

Целью наших исследований является скрининг казеинолитической активности мицелия некоторых базидиальных макромицетов и оценка их практического значения.

Материал и методика. Тканевые культуры исследованных 17 видов/штаммов базидиальных макромицетов (*Collybia acervata* 2Ca, *Coprinus disseminatus* 30Cd, *C. micaceus* 10Cn, *Coriolus versicolor* 1Cv, *Flammulina velutipes* H12Fv, *Lentinus tigrinus* 2Lt, *Lepista personata* 2Lp, *Marasmius oreades* 5Mo, *Hypholoma fasciculare* IV15uHf, *Pholiota destruens* 2Phd, *Pleurotus ostreatus* 19Po, *Polyporus squamosus* 3Ps, *P. varius* 20Pv, *Schizophyllum commune* 1Sch, *Stropharia coronilla* 40Sc, *Suillus luteus* S12 и *Volvariella bombycina* E1Vb) выделяли из плодовых тел, собранных из лесов Центральной части Вирайотских гор Северной Армении.

В опытах по исследованию казеинолитической активности (КЛА) макромицетов использовали культуральную жидкость (КЖ) и экстракт мицелия (ЭМ), полученные после поверхностного выращивания мицелия исследованных видов на жидкой среде сусли в течение 21 сут. Образцы КЖ получались после фильтрования биомассы, которую затем экстрагировали этанолом. Для опытов сухой экстракт разбавляли дистиллированной водой в соотношении 100:1 (мг/мл).

КЛА грибных образцов оценивали по скорости протекания реакций свертывания молока (образование сгустка) и/или пептонизации (молоко становилось прозрачным) [8]. КЖ тестировали в количестве 5 мл, а ЭМ - по 0.2 и 0.8 мл. Контролем служили молоко (К') и молоко-сусли (К). Готовые пробирки инкубировали в термостате в течение пяти суток при 24°.

Повторность опыта двухкратная.

Результаты и обсуждение. КЛА образцов КЖ приводятся в таблице. По скорости протекания реакции особо можно выделить *F. velutipes* с высокой степенью пептонизации и *S. luteus* с высокой степенью свертываемости. Затем, начиная с третьих суток, выраженная пептонизация проявилась у *L. personata*, а высокий уровень свертываемости наблюдался у *P. ostreatus*, *P. varius*, *C. micaceus* и *S. coronilla*. Слабая реакция свертываемости и отсутствие пептонизации отмечались у *Ph. destruens*, *P. squamosus*, *V. bombycina*. У остальных видов пептонизация и свертывание молока проявились соответственно на 4 и 5 сут эксперимента. У *C. acervata* обе реакции полностью отсутствовали.

Активность отсутствовала у всех образцов ЭМ (0.2 мл), кроме *C. micaceus*. КЛА обладали образцы ЭМ *Sch. commune* и *C. disseminatus* в количестве 0.8 мл лишь на 5-е сут опыта.

Исследованные культуры, в частности КЖ штаммов съедобных грибов *S. luteus*, *F. velutipes*, *L. personata* и *P. ostreatus*, отличались высокой КЛА и МСА, что указывает на активный синтез ими внеклеточных протеаз.

Таблица 1. Казеинолитическая активность КЖ некоторых макромицетов

N	Вид макромицетов	Сутки				
		I	II	III	IV	V
1	<i>Collybia acervata</i>	П-С-	П-С-	П-С-	П-С-	П-С-
2	<i>Coprinus disseminatus</i>	П-С+	П+С++	П+С++	П++С+++	П++С+++
3	<i>C. nicaceus</i>	П+С++	П++С++	П++С+++	П++С+++	П++С+++
4	<i>Coriolus versicolor</i>	П+С+	П++С+	П++С+	П++С++	П++С++
5	<i>Flanumulina velutipes</i>	П+++С++	П+++С++	П+++С++	П+++С++	П+++С++
6	<i>Lepista personata</i>	П-С-	П++С-	П+++С-	П+++С-	П+++С-
7	<i>Lentinus tigrinus</i>	П-С-	П+С-	П++С+	П++С+	П+++С++
8	<i>Marasmius oreades</i>	П-С-	П-С+	П-С+	П++С+++	П++С+++
9	<i>Hypholoma fasciculare</i>	П+С-	П+С+	П+С+	П+С+	П+С+
10	<i>Pholiota destruens</i>	П-С-	П-С+	П-С+	П-С+	П-С+
11	<i>Pleurotus ostreatus</i>	П+С++	П++С++	П+++С+++	П+++С+++	П+++С+++
12	<i>Polyporus squamosus</i>	П-С-	П-С+	П-С+	П-С+	П-С+
13	<i>P. varius</i>	П+С+	П++С++	П+++С+++	П+++С+++	П+++С+++
14	<i>Schizophyllum commune</i>	П+С+	П++С++	П++С++	П++С++	П++С++
15	<i>Stropharia coronilla</i>	П-С-	П+С++	П+С+++	П+С+++	П+С+++
16	<i>Suillus luteus</i>	П+С++	П++С+++	П+++С+++	П+++С+++	П+++С+++
17	<i>Volvariella bombycina</i>	П-С-	П-С-	П-С-	П-С+	П-С+

Примечание: П — пептонизация; С — свертывание; (-) — отсутствие активности; от (+) до (++++) наличие различной степени КЛА.

Их можно рекомендовать для дальнейшего доза/эффект скрининга с целью получения новых биотехнологических продуктов грибного происхождения, имеющих практический интерес для медицины и пищевой (молочной) промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадалян С.М. Проблемы медицинской микологии, 3, 1. 25-32. 2001.
2. Бойко М.И. Материалы II Международной конференции. Донецк. 153-157. 2002.
3. Бойко С.М., Стадничук В.М. Материалы I Всероссийского конгресса по медицинской микологии. М., 237-238. 2003.
4. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев. 144с. 1988.
5. Даниляк Х.И., Семичаевский В.Д., Дудченко Л.Г., Трутнева И.А. Ферментные системы высших базидиомицетов. Киев. 279с. 1989.
6. Денисова Н.П. Микология и фитопатология, 16, 5. 458-466. 1982.
7. Денисова Н.П. Микология и фитопатология, 24, 6. 478-485. 1990.
8. Методы экспериментальной микологии. Под ред. Билай В.И., Киев, Наук. думка. 550с, 1982.
9. Руденская Г.Н., Гайда А.В., Степанов В.М. Биохимия, 45, 3. 561-568. 1980.
10. Burton K. S., Wood D. A., Thurston C. F., Barker P. J. J. Gen. Microbiol. 139, 6. 1379-1386. 1993.
11. Kawai M. J. Agr. Chem. Soc. Japan, 47, 8. 467-472. 1973.
12. Wasser S.P., Nevo E., Sokolov D., Reshetnikov S., Timor-Timenetsky M. IJMM, 2, 1. 1-19. 2000.

Поступила 12.XII.2003

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 637.358

ПРИМЕНЕНИЕ НОВЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ФУНГИЦИДНОЙ ОБРАБОТКИ ПЛАВЛЕННЫХ СЫРОВ

А.Э.АРАКСЯНЦ, Ж.Г.АГАДЖАНЫАН

*Армянская сельскохозяйственная академия, сектор технологии молока и мяса,
375009, Ереван*

It has been shown that the use of sorbic acid for this purpose doesn't prove to be correct because of bad dissolubility. Essential oils of the spicy herbs are effective means for the suppression of vital function of mould. It is advisable to use the composition of the essential oils of thyme and tarragon (4:1) on the bearer (vegetable oil), at the rate of 6 ml of pure essential oil to 100 kg raw material.

Фунгициды — плавленый сыр — плесень — эфирные масла

Несмотря на обширность ассортимента плавленных сыров, необходимо его дальнейшее обновление и постоянное совершенствование, обусловленное, с одной стороны, требованиями науки о питании, а с другой — сырьевыми ресурсами и изменяющимся потребительским спросом.

Необходимость увеличения сроков хранения сыров, в частности плавленных, выдвигает перед пищевой промышленностью требование защиты их от порчи, вызываемой плесневыми грибами. Для подавления развития поверхностных плесневых грибов в ряде случаев возникает необходимость применения фунгицидной обработки [2].

Из множества фунгицидных химических соединений для обработки пищевых продуктов особое значение имеют органические кислоты. Степень их эффективности зависит от химического состава, интервала значений показателя pH, в котором их используют, и уровня ионной диссоциации. При низких или средних концентрациях они могут быть эффективны лишь в недиссоциированном состоянии. Лишь в этих условиях, благодаря своей растворимости в липидах, они могут проникать в полупроницаемые оболочки микробных клеток. Поскольку диссоциация некоторых органических кислот с повышением pH возрастает, эти кислоты в производстве плавленных сыров частично теряют эффективность.

Целью нашей работы было исследование фунгицидной активности сорбиновой кислоты и эфирных масел в плавленных сырах.

Из различных фунгицидных препаратов, используемых в консервной промышленности, - соли пропионовой или бензойной кислоты, салициловая кислота, сорбиновая кислота и ее соли - мы остановились на последней. Дело в том, что использование этих фунгицидов разрешено не во всех странах

европейского сообщества, а сорбиновая кислота по химической структуре близка к структуре каприновой кислоты, присутствующей в молочном жире, кроме того, она может расщепляться в человеческом организме [4].

Материалы и методика. Сорбиновую кислоту в количестве 0,01; 0,05; 0,1; 0,15 и 0,2 % добавляли к смеси для плавления сыра.

В последнее время появились сведения о фунгицидных свойствах эфирно-масляных экстрактов некоторых пряных трав [1]. Для исследования этих свойств мы использовали эфирные масла чабреца и эстрагона (4:1). В качестве носителей использовали спирт (с.) и кукурузное масло (к.м.). Экстракт на носителе добавляли в количестве 12, 36 и 59 капель (содержащими соответственно 0,02; 0,06 и 0,1 мл эфирных масел) на 1 кг сырья. Плавленный сыр, содержащий 50 % жира в сухом веществе, 52 % влаги и 2,53 % поваренной соли, вырабатывали по следующей рецептуре (в г из расчета на 1000 г): сыр "Чанах" - 200, сыр "Чечил" - 340, сыр "Чеддар" - 100, масло сливочное - 195, соль-плавитель гидропирофосфат и цитрат натрия (1:1,2) - 40, вода питьевая - 125. В качестве контроля служил плавленный сыр, выработанный по аналогичной рецептуре без добавления сорбиновой кислоты и эфирно-масляных экстрактов. Во все образцы смеси для плавленного сыра, кроме 1 контрольного, добавляли крестьянский козий сыр (10 %) с развитой на поверхности плесенью.

В опытных и контрольных плавленых сырах определяли активную кислотность, количество колоний плесени и степень ее распространения, а также проводили органолептическую оценку плавленного сыра по вкусу и запаху (по 15-бальной шкале). Сыр, расфасованный в алюминиевую лакированную фольгу, исследовали через 15 сут хранения при температуре $10 \pm 2^\circ$ и относительной влажности воздуха 80 ± 5 %.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, в зараженных плесенью плавленых сырах сорбиновая кислота должного фунгицидного эффекта не оказала. Вероятно, это можно отнести к ее плохой растворимости. В плавленом сыре, содержащем 0,01 и 0,05% сорбиновой кислоты, уже через 5 дней хранения в пазах заделки и под фольгой развивалась плесень.

В случае применения 0,1 и 0,15 % сорбиновой кислоты наблюдалось очаговое развитие плесени. Содержание 0,2 % сорбиновой кислоты в плавленом сыре также не избавляет от плесени. Все образцы плавленного сыра, содержащие сорбиновую кислоту, приобретали нехарактерный привкус. Эти данные подтверждают, что сорбиновая кислота не очень эффективна в плавленых сырах, для производства которых использовались сыры с остаточной плесенью. Некоторые ученые объясняют это миграцией сорбиновой кислоты от сильно обсемененных плесенью участков [3].

Косвенным показателем развития плесени служит повышение значения активной кислотности. Плесень в процессе своей жизнедеятельности использует молочную кислоту, тем самым снижает кислотность и повышает значение pH. Вышеуказанное подтверждают данные наших исследований (табл. 1). Так, плавленный сыр без заражения плесенью имел pH — 5,3, а с развившейся плесенью — 5,6-5,7.

Особый интерес представляют результаты исследований фунгицидной активности эфирных масел (табл. 1). Так, применение эфирных масел на носителе — растительном масле более эффективно по сравнению с носителем - спиртом. Вероятно, это связано с испарением спирта при температуре плавления. Эфирные масла в спирте делаются более резкими, жгучими, горьковатыми. Спирт также отрицательно влияет на коллоидное состояние

белковой фракции сыра как при плавлении, так и при последующем формировании консистенции готового продукта.

Таблица 1. Влияние фунгицидных средств на развитие плесени в плавленых сырах

N	Плавленный сыр	Доза сорбиновой кислоты, %	Доза эфирных масел (с.), мл на 1 кг	Доза эфирных масел (к.м.), мл на 1 кг	Значение pH	Количество спор плесени, кос/1г	Распространение плесени, %	Вкус и запах, баллы
1.	Опытный	0.01	-	-	5.6	2800	100	10
2.	"-"	0.05	-	-	5.5	1600	80	10
3.	"-"	0.10	-	-	5.4	900	50	12
4.	"-"	0.15	-	-	5.4	500	10	12
5.	"-"	0.20	-	-	5.3	200	5	13
6.	"-"	-	0.02	-	5.4	300	5	12
7.	"-"	-	0.06	-	5.3	200	-	13
8.	"-"	-	0.10	-	5.3	200	-	13
9.	"-"	-	-	0.02	5.3	200	2	12
10.	"-"	-	-	0.06	5.3	100	-	14
11.	"-"	-	-	0.10	5.3	100	-	15
12.	Контрольный	-	-	-	5.7	3000	100	9
13.	Контрольный без заражения плесенью	-	-	-	5.3	100	-	13

При добавлении к 1 кг смеси для плавления 0.06 и 0.1 мл чистого эфирного масла фунгицидное действие можно считать одинаковым. Активная кислотность не изменяется, оценки вкуса и запаха наиболее высоки, а количество (кое) плесени в 1 г не превышает 100 (допустимое не более 500).

По полученным результатам можно сделать следующие выводы и предложения. Для фунгицидной обработки плавленых сыров, изготовленных с использованием не более 10 % сыра, зараженного плесенью, можно использовать композицию эфирных масел чабреца и эстрагона (4:1) на носителе — растительном масле, из расчета 6 мл чистых эфирных масел на 100 кг сыра. Рекомендуется использовать 1 %-ный раствор эфирных масел в растительном масле. Сорбиновая кислота в плавленых сырах должного фунгицидного эффекта не проявляет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Ж., Оганесян Г. Тезисы докл. Междунар. конф. "Аграрная наука и реформы в преддверии 21 века", Ереван, 611-613, 1998.
2. Бегларян Р.А., Араксянц А.Э. Тезисы докл. Междунар. конф. "Аграрная наука и реформы в преддверии 21 века", Ереван, 603-605, 1998.
3. Кулешова М.Ф., Тиняков В.Т. Плавленые сыры, М., Пищевая промышленность, 176 с., 1977.
4. Производство сыра: технология и качество, М., Агропромиздат, 496 с., 1989.

Поступила 20.1.2003

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 620.193.8:681.3.016

USER FRIENDLY INTERFACE FOR MICROBIAL NOMENCLATURAL DATABASE

H.V. ASTSATRYAN, E.G. AFRIKIAN

State Microbial Depository Centre of NAS of Armenia, 378510, Abovian city

The creation of user friendly interface for microbial nomenclatural Database (DB) as well as the hierarchical cluster analysis as a general approach for revealing of groups and members similarity coefficient. A programming environment for users has been worked out functioning via WEB interface.

Յոդվածում դիտարկվում են միկրոօրգանիզմների անվանակարգային տվյալների հենքերի համար "օգտագործողին մոտ" միջավայրի մշակումը, ինչպես նաև հիերարխիկ կլաստերային անալիզը (ծառի մեթոդ) որպես գլխավոր գործիք գտնելու միկրոօրգանիզմների խմբերի և անդամների միջև հարաբերակցությունը: Այն իրականացնելու համար ստեղծվել է ծրագրային փաթեթ, որը աշխատում է WEB ինտերֆեյսի օգնությամբ:

Обсуждаются подходы по разработке дружественного интерфейса для пользователей номенклатурной базой данных микроорганизмов, а также использования иерархического кластерного анализа как главного инструмента выявления взаимосвязи между разными группами и объектами БД. Для реализации этого создан программный пакет, функционирующий WEB интерфейсом.

Microbial Databases - WEB interface - Programming Packages

The information technologies have a wide use in microbiology initiated by a huge amount of data to be treated. The implementation of it is of crucial importance for generalization of data for creation of microbial Culture Collections. The State Microbial Depository Centre (RCDM) of the National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, established in 1993 represents the National Culture Collection of non-pathogenous microbial strains of scientific and industrial importance and at the moment maintains more than 10.000 strains. Microbial strains preserved are well-defined and supplied by detailed information on their characteristics, related to ecological, morpho-physiological, biochemical and biosynthetic patterns.

As a result of preceding researches a functional DB of microbial cultures has been developed for integration of the data kept and their interrelationships [3].

The MySQL Database programming package as DB server has been used as very fast, multi-threaded, multi-user, and robust SQL (Structured Query Language). The WEB interface for dialog between users and DB server has been applied. A managing programming package by PHP [4] language has been created. The Apache Web server has been used as a powerful, flexible, HTTP/1.1 compliant web server. PHP represents a robust open-source development language providing with tools and

flexibility to accomplish virtually any task formulated. PHP is an embedded language. It means that developers can jump between raw HTML code and PHP without sacrificing readability.

For classification of the properties of microorganisms in DB the RKC (corresponding names of the authors Rogosa, Krichevsky, Colwell) coding system was used. RKC represents the description-codes and characterizes the features (morphology, biochemistry, physiology, etc.) of microorganisms. The RKC coding is recommended by number of international organizations (CODATA, WFCC, ICSU, MSDN) as a commonly accepted standard.

The microbial DB consists of two subdatabases (Figure 1). The Secondary subdatabase serves to the Main subdatabases. The tables of Secondary subdatabase are used for Main subdatabase. The Main Subdatabase has the following format: ID (identification): Genus: Group: Species: Subspecies: RKC_code: RKC_value: Worker1: Worker2: User: Date, where main Subdatabase tables consist of following fields:

Genus: Genus Rubricator (unsigned integer, length 3)

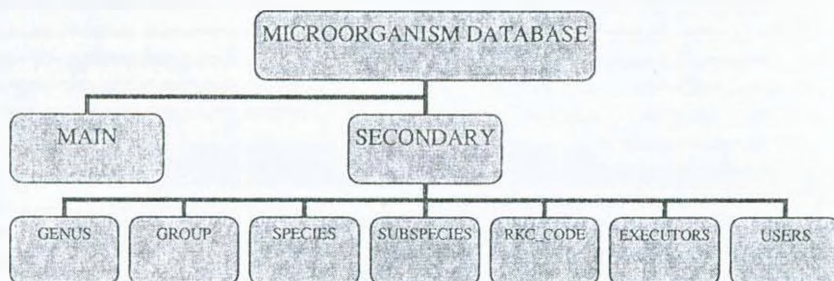


Fig. 1. The structure of microbial nomenclatural DB.

Group: Group Rubricator (unsigned integer, length 3)

Species: Species Rubricator (unsigned integer, length 3)

Subspecies: SubSpecies Rubricator (unsigned integer, length 3)

RKC_code: RKC code of microorganism (unsigned integer, length 6)

RKC_value: RKC code value of microorganism (unsigned integer, length 1)

Researcher: Researcher code (unsigned integer, length 3)

Compiler: Compiler code (unsigned integer, length 3)

Users: Web User code (unsigned integer, length 3)

Date: Input date of object (DateTime)

A cluster analysis for the screening of groups and objects similarity between microorganisms studied has been used [5]. Cluster analysis is a collection of statistical methods for identification of groups and objects that behave similarly or show similar characteristics. The simplest mechanism is the partition of the objects what defines the measurements of capturing similarity or distance between the objects. In this way, clusters and groups are interchangeable words. The clustering algorithms are broadly classified into two named hierarchical and non-hierarchical algorithms [1, 2]. In case of hierarchical procedures, possible to create a hierarchy or tree-like

structure to determine the relationship among entities. In the non-hierarchical method a position for the measurement is taken as central place and distance for measurement from such central point. Identification of right central position is a big challenge and hence non-hierarchical methods are less popular.

For realizing of the cluster analysis on a set of microorganisms, the web user first needs to establish such a unit. Users can determine a set of microorganisms taking into account the following properties: Genus, Group, Species, Subspecies, RKC_code, RKC_value, Researcher, and Compiler. Web user can give an array of values for each property of microorganism. The result of this operation is a matrix. The length of this matrix is $n \times m$, where n is a quantity of microorganisms and m is a quantity of RKC codes. The PHP distance() function transforms a matrix to a distance matrix. The function calculates the distance between given n microorganisms and so on, until the distances between all the pairs have been calculated. If we see the rows of the microorganism matrix as vectors, then each variable occupies a position in a four dimensional spaces. Thus, possible to calculate a distance between any two variables applying arithmetic vector.

In case of error the program returns error message. Then the output of distance () function becomes as input stream for draw () PHP function. This function analyses the whole structure of distance matrix and creates gif format picture in temporary directory. The managing programs visually show it on the web page. In programming environment authors use PHP, Java and HTML programming languages.

The development of Intranet, permits to realize the connection of such networks to the Internet occurs an opportunity from any workplace of organization to receive access to an information resource of the network. Taking into account the abovementioned the Web management environment (programming package) for communication links between users and DB has been created. The programming package developed is successfully functioning in the RCDM ensuring well-exploitation parameters for Culture Collection's service. Based on the results obtained the DB of synthetic polymers has to be developed. This work is done within the framework of ISTC (International Science and Technology Center) A-092.2 Project.

REFERENCES

1. *Kusiak A.* "Data Analysis: Models and Algorithms", Intelligent Systems Laboratory, 4312 Seamans Center, The University of Iowa, 2001.
2. *Mahadevan S.* "The Junction Tree Algorithm", University of Massachusetts, CMPSCI 691T: Week2 – p. 1, 1999.
3. *Pogosyan A.G., Astsatryan H.V., Adamyan M.O., Afrikian E.G.* "Relational Database for microbial degradants", V International Scientific-practical Conference, "Modern Problems of Biological Degradation of Materials (BioDegradation - 2002)", Penza, 127-130, 2002.
4. Source page: <http://www.php.net>
5. *Yadohisa H., Takeuchi A., Inada K.* Journal of Classification, 16, 1, 1999.

Поступила 25.IX.2003

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Զաքարյան Ա.Ե., Այվազյան Ն.Ս., Զաքարյան Ն.Ա. Ողնաշարավորների հյուսվածքների թաղանթային կառույցների ՌԲՄ-ճառագայթման ազդեցությամբ քիմյուսինեսցենցիայի ուսումնասիրությունը	3
Ներսեսյան Լ.Է., Ղարիբյան Զ.Վ., Դանիելյան Ի.Ս., Սիարոնյան Ա.Ս., Ստեփանյան Դ.Ս., Ղարիբյան Բ.Տ. Ուռուցքային բջիջների ՂՆԹ-ի կառուցվածքային փոփոխությունները համալիր բուժման ժամանակ	7
Սիսակյան Ս.Ա., Բաղդասյան Ս.Ս., Մանուչարյան Դ.Շ., Սիմոնյան Լ.Ն., Ղարիբյան Ն.Գ. Գլխարկավոր սնկերի <i>Lentinula edodes</i> և <i>Hypholoma fasciculare</i> միցելիումի հակապրոտոզոային ակտիվությունը	12
Ղափթյան Տ.Կ. Ադրիամիցինի և փոփոխական մետաղների իոնների հետ նրա կոմպլեքսների հակամանրէային և իմունամոդուլյատոր ակտիվությունը կուլտուրայում	18
Խվիթիա Ն.Գ., Խնչինաշվիլի Գ.Ն. Թոքախտի ժամանակ արյան կաթմիր ձևավոր տարրերի առանձնահատկությունները	26
Պողոսյան Լ.Դ., Դակոբյան Ժ.Ի. Պուրինոկլետիկոֆոսֆորիլազի աֆինային մաքրումը բջջերի ու երկամների նորմալ և ուռուցքային հյուսվածքներից	29
Դեբիդյան Ա.Ա., Խաչվանյան Դ.Կ., Մարտիրոսյան Լ.Կ., Օրբելյան Գ.Ա., Պողոսյան Բ.Է., Դարոբյանյան Կողակ Բ.Ա. Կատվի կողմնային ծնկային մարմնի բջիջների օրինետացիոն զգայունությունը	33
Օրմանյան Ժ.Խ., Թադևոսյան Պ.Ե., Կինոսյան Ս.Դ., Աֆրիկյան Է.Գ. Նոր հեռանկարային բակտերիաների բնութագիրը միջատասպան պատրաստուկների համար	38
Նիկողոսյան Վ.Գ., Բաղդասարյան Ի.Բ. Թիթեռնածաղկավոր բույսերի արմատային զոնայում ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսատորների տարածվածությունը	45
Դակոբյան Լ.Դ., Զարյան Լ.Ս., Ղաղիվանյան Դ.Ա., Մարտիրոսյան Ա.Դ., Սնդրյան Ս.Լ. Ֆերմային ռեժիմի ազդեցությունը <i>Lactobacillus acidophilus</i> «Նարինե»-ի շտամի թթուարտադրության, լորձառաջացման և կենսունակության վրա	50
Շիրվանյան Ա.Յու., Ղազարյան Պ.Ա., Ղազարյան Վ.Վ. Լիպիդների փոխանակության որոշ ցուցանիշների դերը կովերի լեյկոզի ախտածնության մեջ	57
Բաբախանյան Ս.Ա., Աստվածատրյան Ն.Ձ., Դովհաննիսյան Լ.Է. Դիդրոպոնիկական ֆիտոտեխնոլոգիայի հնարավորությունները	61
Գրիգորյան Ս.Լ., Դովհաննիսյան Ս.Դ., Վարդանյան Ա.Ա. Որոճողների խշխշան պալարի նկատմամբ վակցինայի ստացումը տեղական շտամից և նրա իմունածնության որոշումը	68
Պիպոյան Ս.Խ., Գաբրիելյան Ի.Գ. Ծածանների նոր տեսակ <i>Palaeoleuciscus macrocephalus</i> sp. nov. (Cyprinidae, Pisces) Դյուխիսային Դայաստանի ստորին օլիգոցենից	75
Ուրբեմյան Դ.Ռ., Առաքելյան Ս.Ա. Սևանա լճի արծաթափայլ ծածանի (<i>Carasius auratus</i> Gibelio) որոշ ցուցանիշների սեզոնային դինամիկան	80
Դակոբյան Վ.Վ., Կարապետյան Զ.Ա. Նեմատոդների խառը պոպուլյացիայի պարզեցն ազդեցությունը խաղողի տնկիների վրա	85
Դարոբյանյան Ռ.Գ. Դայաստանի ֆաունայի համար հրաթիթեռնանման թեփուկաթևերի (<i>Lepidoptera, Pyraloidea</i>) նոր տեսակներ	89
Սկրտյան Դ.Ս. Սոխի ցողունային նեմատոդի կենսաբանական առանձնահատկությունները	93
Նավասարդյան Ե.Ս., Սնանյան Վ.Վ., Սելիքովա Տ.Ս. <i>Lathyrus (Fabaceae): L. hirsutus</i> L. և <i>L. cassius</i> Boiss միանյա տեսակների ինքնահամատեղելիությունը	98

Բաղդասարյան Ն.Ա. Առնետների լյարդում վիտամեն և անտիօքս ադապտոգենների կարգավորիչ էֆեկտը մետաղապրոտեինների և մալոնային դիալդեհիդի մակարդակի վրա բարձր ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության ժամանակ	102
Պետրոսյան Ա.Գ. Երևանի կանաչ տնկարաններում ասեղնատերևավորների աճման և զեներատիվ զարգացման առանձնահատկությունները	106
Նաղաշյան Զ.Ջ., Շչերբակով Օ.Վ. Երևանի էրեբունու համայնքի հողի աղտոտվածությունը մսակերների ասկարիդատների ծվերով	112
Ղոստուրյան Վ.Ա., Բաղդասարով Գ.Ն. «Լոման բրաուն» կրոսի հավերի սննդային ծվերի որակը	115

Համառոտ հաղորդումներ

Մաթևոսյան Մ.Բ. Երևան քաղաքի միջով հոսող Հրազդան գետի ջրերի աղտոտիչների կլաստոգեն գնահատականը	121
Բաղյան Վ.Ա. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> դրոժների կիլեր ակտիվությունը	124
Փանոսյան Դ.Յ., Թոգլալարյան Պ.Վ., Գասպարյան Ա.Վ. էքստրեմոֆիլ բացիլները որպես ցիկլոդեքստրին գլյուկանոտրանսֆերազայի և β-գալակտոզիդազայի ակտիվ արտադրիչներ	127
Նավասարդյան Լ.Դ. <i>Candida guilliermondii</i> դրոժների հիստոնների լուսաձորիչ և էլեկտրաֆորետիկ ցուցանիշների հետազոտությունը	131
Գաբրիելյան Տ.Ջ., Գրիգորյան Ա.Լ. Վիրուսային արյունահոսային հիվանդության և պաստերելլոզի դեմ իմունացված ճագարների շիճուկաբանակ սն հետազոտությունը ..	134
Կակոսյան Ա.Է., Հարությունյան Ա.Ֆ., Պողոսյան Ա.Ա. Սպիրտայնության և ծծմբի անհիդրիդի ազդեցությունը սեղանի կարմիր գինեմուրների խնձորակաթնաթթվային խմորման ընթացքի վրա	137
Ղալաշյան Ա.Վ., Աբրահամյան Ա.Շ., Մնացականյան Գ.Ա., Հովհաննիսյան Ա.Ի., Հարությունյան Ա.Ա., Ղարազյոզյան Կ.Գ. Արյան էրիթրոցիտների թաղանթային սպիտակուցների լուծազատելիության փոփոխությունները սրտի անբավարարության ժամանակ	141
Ղազարյան Ա.Պ. Ֆոսֆատիդոգենեզի առաջնային փուլերի ֆերմենտային համակարգերի ակտիվությունը ճառագայթման ժամանակ և հիպոթալամուսի PRP, պոլիպեպտիդի օգտագործումից հետո	144
Անտոնյան Ա.Շ., Հարությունյան Ռ.Ա., Քոչարյան Ռ.Գ. Ոչխարների ջերմակայունության հատկությունները կախված բարձրագույն նյարդային գործունեության տեսակից	148
Մելիքյան Կ.Ա. Փոքր սպիտակաթև սուզակի բնագրման և թվաքանակը կենսակերպը	151
Մելիքյան Կ.Ա. Արարատյան հարթավայրի լճակային ձկնաբուծական տնտեսությունների պայմաններում սևավիզ սուզակի սնունդը	154
Գևորգյան Ա.Կ. Հայաստանի մեղրերի հիգիենիկ նկարագրությունները	156
Ոսկանյան Վ.Է., Մանուկյան Վ.Ա., Հարությունյան Ա.Ա. Ջրվեժի անտոնապարկի բուսական ռեսուրսները	160
Ղոստուրյան Վ.Ա., Բաղդասարով Գ.Ն. «Լոման բրաուն» կրոսի հավերի մթերատվությունը Հայաստանի Կոտայքի մարզի պայմաններում	162

Բանավեճ, մատենագրություն

Վահրադյան Դ.Գ., Վահրադյան Վ.Գ. Մոդելավորման պրոցեսների ըմբռնման նոր մոտեցում	166
Սաղաթյան Ա.Վ., Թադևոսյան Տ.Լ. "Biosphere reserve" տերմին-հասկացության և դրա ռուսերեն և հայերեն տարբերակների համապատասխանելիության վերլուծությունը ..	170
Գրիգորյան Դ.Ջ. Ողնաշարավոր կենդանիների հայերեն տաքսոնոմիական անվանումների արդի վիճակի և կենդանաբանական բառարանի ստեղծման անհրաժեշտության մասին	173

Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ

Պապոյան Ա.Ռ., Հովհաննիսյան Ա.Պ. <i>Pleurotus eryngii</i> -ի պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ակտիվությունը	177
Թամրազյան Ա.Հ., Կարապետյան Ս.Ա., Ղափթյան Ս.Ա. <i>Paramecium multimicronucleatum</i> ինֆուզորիաների բջիջների միտոքոնդրիումային ֆրակցիայի գլյուտամինազային մասնակի մաքրումը և ֆերմենտի որոշ կինետիկական հատկությունները	178
Վարդանյան Ջ.Հ., Վարդանյան Բ.Հ., Ղափթյան Ս.Ա. Քիմիական մոտագենի ազդեցությունը լոբու սերմերի աղալուծելի սպիտակուցների վրա	179

Биолог. журн. Армении, 1-2 (55), 2003

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Закарян А.Е., Айвазян Н.М., Закарян Н.А. Изучение хемилюминесценции мембранных структур тканей позвоночных при действии УФ-излучения	3
Нерсисян Л.Э., Гарибян Д.В., Даниелян И.С., Агаронян А.С., Степанян Г.М., Гарибджанян Б.Т. Структурные изменения в ДНК опухолевых клеток при комплексном лечении	7
Сисакян С.А., Бадалян С.М., Манучарян Д.Ш., Симонян Л.Н., Гарибян Н.Г. Исследование антипротозойной активности мицелия шляпочных грибов <i>Lentinula edodes</i> и <i>Hypholoma fasciculare</i>	12
Давтян Т.К. Антибактериальная и иммуномодулирующая активность адриамицина и его комплексов с ионами переходных металлов в культуре	18
Хвятия Н.Г., Хечинашвили Г.Н. Особенности красных форменных элементов крови при туберкулезе	26
Погосян Л.Г., Акопян Ж.И. Аффинная очистка пуриннуклеозидфосфорилазы из опухолевых и нормальных тканей легких и почек	29
Экимян А.А., Хачванкян Д.К., Мартиросян Л.В., Орбелян Г.А., Погосян К.Э., Арутюнян-Козак Б.А. Ориентационная чувствительность нейронов латерального коленчатого тела кошки	33
Орманян Ж.Х., Татевосян П.Е., Киносян М.А., Африкян Э.К. Характеристика новых перспективных бактерий для инсектицидных препаратов	38
Никогосян В.Г., Багдасарян И.Б. Распространенность несимбиотических азотфиксаторов в корневой зоне бобовых растений	45
Акопян Л.Г., Чарян Л.М., Дадиванян О.А., Мартиросян А.О., Мнджоян М.Л. Влияние температурных режимов культивирования на кислотообразование, глизеобразование и выживаемость <i>Lactobacillus acidophilus</i> [Наринэ]	50
Ширванян А.Ю., Казарян П.А., Казарян В.В. Роль некоторых показателей липидного обмена при патогенезе лейкоза у коров	57
Бабаханян М.А., Аствацатрян Н.З., Оганесян Л.Э. Возможности гидропонической фитотехнологии	61
Григорян С.Л., Оганесян М.А., Варданян А.А. Получение вакцины против эмфизематозного карбункула жвачных из местного штамма и определение ее иммуногенности	68
Пипоян С.Х., Габриелян И.Г. Новый вид карповых <i>Palaeoleuciscus macrocephalus</i> sp. nov. (Cyprinidae, Pisces) из нижнего олигоцена Северной Армении	75
Рубенян А.Р., Аракелян А.А. Сезонная динамика некоторых показателей серебряного караса (<i>Carassius auratus Gibelio</i>) оз. Севан	80

Акопян К.В., Карапетян Дж.А. Патогенное действие смешанных популяций нематод на саженцы винограда	85
Арутюнян Р.Г. Новые виды огневкообразных чешуекрылых (<i>Lepidoptera</i> , <i>Pyraloidea</i>) для фауны Армении	89
Мкртчян Р.С. Биологические особенности луковой стеблевой нематоды	93
Навасардян Е.М., Ананян К.В., Меликова Т.С. Самосовместимость однолетних видов рода <i>Lathyrus</i> (<i>Fabaceae</i>): <i>L. hirsutus</i> L. и <i>L. cassius</i> Boiss	98
Багдасарян Н.А. Регулирующий эффект адаптогенов витажен и антиокс на уровни металлопротеинов и малонового диальдегида в печени крыс при повышенной физической нагрузке	102
Петросян А.Г. Особенности роста и генеративного развития хвойных в зеленых насаждениях Еревана	106
Нагашян О.З., Щербаков О.В. Загрязненность почвы Эребунийской префектуры Еревана яйцами аскаридат плотоядных	112
Достурян В.С., Багдасаров Г.Н. Качество пищевых яиц кур кросса [Ломанн браун] ..	115

Краткие сообщения

Матевосян М.Б. Кластогенная оценка загрязнителей вод р. Раздан в пределах Еревана	121
Багиян В.А. Киллер активность дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	124
Паносян О.А., Тозалакян П.В., Гаспарян А.В. Экстремофильные формы бацилл как активные продуценты циклодекстрина глюканотрансферазы и β-галактозидазы	127
Навасардян Л.А. Исследование флюоресцентных и электрофоретических параметров гистонов дрожжей <i>Candida guilliermondii</i>	131
Габриелян Т.З., Григорян С.Л. Серологическое исследование кроликов иммунизированных против вирусной геморрагической болезни и пастереллеза ...	134
Какосян А.Э., Арутюнян А.Ф., Погосян А.С. Зависимость яблочно-молочного брожения от спиртозности и содержания сернистого ангидрида в красных столовых виноматериалах	137
Калачян А.В., Абрамян А.Ш., Мнацаканян Г.А., Оганисян А.И., Арутюнян А.А., Карагезян К.Г. Изменения экстрагируемости белков мембран эритроцитов крови при сердечной недостаточности	141
Казарян А.П. Активность ферментных систем начальных этапов фосфатидогенеза при облучении и после применения гипоталамического полипептида PRP ₁	144
Антонян А.Ш., Арутюнян Р.А., Кочарян Р.Г. Особенности теплоустойчивости овец в зависимости от типа высшей нервной деятельности	148
Меликян К.А. Экология гнездования и численность белокрылой малой поганки	151
Меликян К.А. Питание черношейной поганки в условиях рыбоводных прудов Араратской равнины	154
Геворкян А.К. Гигиенические характеристики медов Армении	156
Восканян В.Е. Растительные ресурсы Джрвежского лесопарка	160
Достурян В.С., Багдасаров Г.Н. Продуктивность кур кросса [Ломанн браун] в условиях Котайкского района Армении	162

Дискуссии, библиография

Ваградян А.Г., Ваградян В.Г. Новый подход к пониманию процессов моделирования	166
Сагателян А.К., Тадевосян Т.Л. Анализ адекватности термина-понятия [Biosphere reserve] и его русских и армянских аналогов	170

Григорян А.Дж. О современном состоянии таксономических названий позвоночных животных в армянском языке и необходимости создания зоологического словаря	173
--	-----

Рефераты депонированных статей

Папоян М.Р., Оганесян С.П. Активность протеолитических ферментов у степной вешенки <i>Pleurotus eryngii</i>	177
Тамразян А.А., Карапетян С.А., Давтян М.А. Частичная очистка глутаминазы митохондриальной фракции инфузорий <i>Paramecium multimicronucleatum</i> методом ионообменной хроматографии и некоторые кинетические свойства фермента	178
Варданян Дж.А., Варданян К.А., Давтян М.А. Влияние химических мутагенов на солерастворимые белки семян фасоли	179

Biolog. J. Armenia, 1-2 (55), 2003

CONTENTS

Original articles

Zakharian A.E., Ayyazian N.M., Zakharian N.A. Study of chemiluminescence in membrane structures of vertebrate tissues under influence of UV-radiation	3
Nersesyan L.E., Garibyan J.V., Danielyan I.S., Aharonyan A.S., Stepanyan H.M., Garibjanyan B.T. The structural changes of tumor DNA under the complex treatment ...	7
Sisakyan S.A., Badalyan S.M., Manucharyan D.Sh., Simonyan L.N., Garibyan N.G. Study of antiprotozoan activity of mycelium of <i>Lentinula edodes</i> and <i>Hypholoma fasciculare</i> mushrooms	12
Davtyan T.K. Antibacterial and immunomodulatory activity of adriamycin and its complexes with transitor metal ions <i>in vitro</i>	18
Khvitia N.G., Khechinashvili G.N. Peculiarities of the red blood cells in tuberculosis	26
Pogosyan L.G., Akopian J.I. Affinity purification of purin nucleoside phosphorylase from kidney and lung normal and tumour tissues	29
Hekimian A.A., Khachvankian D.K., Martirosian L.V., Orbelian G.A., Pogolian K.E., Harutiunian-Kozak B.A. Orientation sensitivity of cat's lateral geniculate neurons	33
Ormnyan J.Kh., Tatevosyan P.E., Kinoyan M.H., Afrikan E.G. Characteristics of new perspective bacteria for production of insecticides	38
Nikoghosian V.G., Bagdasarian I.B. Distribution of the nonsymbiotic nitrogen-fixers in the root zone of leguminous plants	45
Akopyan L.H., Charyan L.M., Dadivanyan H.A., Martirosyan A.H., Mnjoyan M.L. Influence of temperature on production of acid, mucus and viability of <i>Lactobacillus acidophilus</i> [Narine]	50
Shirvanyan A.Yu., Kazaryan P.A., Kazaryan V.V. The role of some indices of lipid metabolism at pathogenesis of cows leucosis	57
Babakhanyan M.A., Astvatsatryan N.Z., Hovhannisyan L.E. Possibilities of hydroponic phytotechnology	61
Grigoryan S.L., Hovhannisyan M.A., Vardanyan A.A. Separation of vaccine against blackleg of ruminants from local culture and determination of its immunogenicity	68
Pipoyan S.Kh., Gabrielyan I.G. New species of carp <i>Palaeoleuciscus macrocephalus</i> sp. nov. (Cyprinidae, Pisces) from Northern Armenia's lower oligocene	75

<i>Rubenyan H.R., Arakelyan A.A.</i> Dynamics some parameters of <i>Carasius auratus Gibelio</i> in lake Sevan by seasons	80
<i>Hakobian K.V., Karapetian J.A.</i> Pathogenetic action of mixed populations of nematodes on grape	85
<i>Harutiunian R.G.</i> New species of pyralid-moths (<i>Lepidoptera, Pyraloidea</i>) for the fauna of Armenia	89
<i>Mkrtychyan H.S.</i> The biological peculiarities of bulbous caulescent nematodes	93
<i>Navasardyan E.M., Ananyan K.V., Melikova T.S.</i> The self-compatibility of annual species of <i>Lathyrus (Fabaceae): L. hirsutus L. and L. cassius Boiss</i>	98
<i>Baghdasaryan N.A.</i> Regulating effect of adaptogens vitagen and antiox on metaloproteins and malone dialdehyde's level in rat liver under the physical loading	102
<i>Petrosjan A.G.</i> Growth peculiarities and generative development of conifers in green plantations of Yerevan	106
<i>Naghashyan H.Z., Shcherbakov O.V.</i> Soil pollution in Erebuni prefecture of Yerevan by carnivorous ascarids eggs	112
<i>Dosturyan V.S., Baghdasarov G.N.</i> The nutritive egg quality of the Lohmann brown cross hen	115

Short communications

<i>Matevosyan M.B.</i> Clastogenic assessment of water in Hrazdan river within Yerevan city	121
<i>Bagiyan V.A.</i> The killer activity of yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	124
<i>Panosyan H.H., Tozalakyan P.V., Gasparyan A.V.</i> Extremophilic bacilli as active producers of cyclodextrin glucanotransferase and β -galactosidase	127
<i>Navasardyan L.H.</i> Study of fluorescent and electrophoretic parameters of histones of <i>Candida guilliermondii</i>	131
<i>Gabrielyan T.Z., Grigoryan S.L.</i> Serological researches of rabbits immunized against viral hemorrhagic disease and pasteurellosis	134
<i>Kakosyan A.E., Harutyunyan A.F., Pogosyan A.S.</i> Dependence of malolactic fermentation from spirtuosus and contents of sulphurous anhydride in some red winematerials	137
<i>Kalachian H.V., Abramyan A. Sh., Mnatsakanyan G.A., Oganisyan A.I., Arutunyan A.A., Karageuzyan K.G.</i> Changes in extraction of erythrocyte membrane proteins of blood at heart failure	141
<i>Kazaryan A.P.</i> Activity of enzyme systems at the initial stages of phosphatidogenesis under irradiation and after application of PRP ₁ hypothalamic polypeptide	144
<i>Antonyan A.Sh., Harutyunyan R.A., Kocharyan R.G.</i> Heat-resistant peculiarities of sheep in dependence of higher nervous activity type	148
<i>Melikyan K.A.</i> Breeding ecology and abundance of little grebe	151
<i>Melikyan K.A.</i> Food habits of black-necked grebe under conditions of the fish-farming ponds of Ararat plane	154
<i>Gevorkyan H.K.</i> Hygienic characteristics of Armenian honeys	156
<i>Voskanyan V.E.</i> Plant resources of Jrvezh forest-park	160
<i>Dosturyan V.S., Baghdasarov G.H.</i> Productivity of hens of the Lohmann brown cross under the conditions of the Kotayk region of Armenia	162

Discussions, bibliography

<i>Vahradyan H.G., Vahradyan V.G.</i> A new approach to understanding of the modelling processes	166
<i>Saghatelyan A.K., Tadevosyan T.L.</i> The analysis of the adequate term-concept	

□Biosphere reserve□ and its Russian and Armenian analogues	170
Grigoryan H.G. The contemporary state of taxonomic names of vertebrates in the Armenian language and the necessity of creation of zoological dictionary	173

Abstracts of deponated articles

Papoyan M.R., Hovhannisyan S.P. Activity of proteolytic enzymes at <i>Pleurotus eryngii</i>	177
Tamrazyan A.H., Karapetyan S.A., Davtyan M.A. Partial purification of mitochondrial glutaminase of <i>Paramecium multimicronucleatum</i> by the method of the ionexchange chromatography: some kinetic properties of the enzyme	178
Vardanian J.A., Vardanian K.A., Davtyan M.A. The influence of chemical mutagene on the salt-soluble proteins of the bean seeds	179

Հայաստանի կենսաբան. հանդես, 3 (55), 2003

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Սովսիսյան Վ.Ս. Ջրօգտագործման միջպետական և միջազգային փոխհարաբերությունների և համագործակցության մի քանի հիմնահարցեր	183
Հովհաննիսյան Ռ.Գ., Կարստենս Ռ.Պ. Օտարածին եբզոնի հյուսվածքասպեցիֆիկ սպլայսինգը ֆիբրոբլաստների ածի գործոնի պրե-մՈՆԹ-ի ռեցեպտոր 2-ի <i>cis</i> էլեմենտների կարգավորման ազդեցությամբ	191
Բուրյակո Ի.Ա., Աստապովիչ Ն.Ի., Ղուբատովկա Ս.Ի., Լորանոկ Ա.Գ., Անտրանիկյան Գ. Օսլա յուրացնող կաթնաթթվային բակտերիաների մեկուսացումը և բնութագիրը	198
Շանջյան Ս.Ս., Աֆրիկյան Է.Գ., Անտրանիկյան Գ. Կաթնաթթվի անընդհատ ստացումը	204
Շանջյան Ս.Ս., Բոչկովա Ա.Պ., Պանտյուկ Օ., Անտրանիկյան Գ., Աֆրիկյան Է.Գ. Սիկրոօրգանիզմների ածի կարգավորիչ հիդրոպատերիսի ազդեցությունը կաթնաթթվային խմորման վրա	210
Արեյան Վ.Հ., Բալայան Ս.Ս. Լակտոսախարոզի ֆերմենտատիվ սինթեզը	214
Վարդանյան Ն.Ս., Հակոբյան Վ.Պ. Սետաղների կենսատեխնոլոգիայի համար կարևոր քեմոլիթոտրոֆ բակտերիաների տարածվածությունը Հայաստանի սուլֆիդային հանքավայրերում	220

Համառոտ հաղորդումներ

Գևորգյան Մ.Լ., Ղափյան Մ.Ա. Արգինազի ինակտիվացումը յոդացետատով	228
Գրիգորյան Վ.Գ. Հրազդան գետի ջրի որակը և սեզոնային դինամիկան	231
Նիկողոսյան Վ.Գ., Բաղդասարյան Ի.Բ. Ազոտֆիքսող մանրէների համակեցությունների ածխածնի տարբեր աղբյուրների օգտագործման և ազոտի ֆիքսման ակտիվության մասին	234
Նիկողոսյան Վ.Գ., Բաղդասարյան Ի.Բ. Ղիազոտրոֆների ազոտֆիքսացիայի խթանումը ազոտֆիքսող մանրէների համակեցությունում զարգացող բակտերիաների կողմից	238
Վարդանյան Ն.Ս. Պիրիտի տարրալվացումը ծծումբ և երկաթ օքսիդացնող բակտերիաների և նրանց համակեցությունների կողմից	242
Նավասարդյան Լ.Ա. Քաղցած շաքարասնկերի սպիտակուցի ջրալույծ ֆրակցիայի փոփոխությունները ազոտային սննդառության վերականգնման ժամանակ	245

Ակնարկներ

Սղաքայան Ա.Ս. Պրիոնները որպես ինֆեկցիոն ոչ նուկլեինային ազենտների նոր, հատուկ տեսակ	248
---	-----

Գրախոսություն

Աֆրիկյան Է.Գ. Զ.Գ. Շլեգել. Միկրոբիոլոգիայի պատմություն	253
--	-----

Լրատու

Վահան Օսիպի Ղազարյան (ծննդյան 85-ամյակի առթիվ)	255
Լևոն Արշալույսի Մատինյան (ծննդյան 80-ամյակի առթիվ)	258

Ավանդադրված հոդվածի ռեֆերատ

Պապոյան Ա.Ռ., Հովհաննիսյան Ս.Պ., Դավթյան Ս.Ա. <i>Aspergillus niger</i> R-3-ի պերոքսիսոմալ պրոտեազները և պեպտիդ հիդրոլազները	260
---	-----

Биолог. журн. Армении, 3 (55), 2003

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Мовсисян В.М. Актуальные проблемы межгосударственного и международного сотрудничества в области водопользования в Армении	183
Оганесян Р.Г., Карстенс Р.П. Ткане-специфичный сплайсинг чужеродного экзона под регуляцией <i>cis</i> элементов пре-мРНК рецептора 2 фактора роста фибробластов	191
Буряко И.А., Астапович Н.И., Дубатовка С.И., Лобанок А.Г., Антраникян Г. Выделение и характеристика крахмал утилизирующих молочнокислых бактерий	198
Шамцян М.М., Африкян Э.К., Антраникян Г. Непрерывное получение молочной кислоты	204
Шамцян М.М., Бочкова А.П., Пантюк О., Антраникян Г., Африкян Э.К. Влияние регулятора роста микроорганизмов гидроптерина на молочнокислое брожение ...	210
Абелян В.А., Балаян А.М. Ферментативный синтез лактосахарозы	214
Варданян Н.С., Акопян В.П. Распространение хемолитотрофных бактерий для биотехнологии металлов в сульфидных месторождениях Армении	220

Краткие сообщения

Геворкян М.Л., Давтян М.А. Инактивация аргиназы иодацетатом	228
Григорян В.Г. Качество воды р. Раздан и его сезонная динамика	231
Никогосян В.Г., Багдасарян И.Б. Об использовании различных источников углерода и активность азотфиксации сообществ азотфиксирующих микроорганизмов	234
Никогосян В.Г., Багдасарян И.Б. Стимуляция азотфиксации диазотрофов бактериями, развивающимися в сообществе азотфиксирующих микроорганизмов	238
Варданян Н.С. Выщелачивание пирита серо- и железоокисляющими бактериями и их ассоциациями	242
Навасардян Л.А. Изменения в водорастворимой фракции белка голодавших дрожжей при восстановлении азотного питания	245

Обзоры

Агабян А.С. Прионы - новый, особый тип инфекционных безнуклеиновых агентов	248
---	-----

Библиография

Африкан Э.К. Г.Г. Шлегель. История микробиологии	253
--	-----

Хроника

Ваган Осипович Казарян (к 85-летию со дня рождения)	255
Левон Аршалуйсович Матинян (к 80-летию со дня рождения)	258

Реферат депонированной статьи

Папоян А.Р., Оганесян С.П., Давтян М.А. Пероксисомальные протеазы и пептид-гидролазы <i>Aspergillus niger</i> R-3	260
--	-----

Biolog. J. Armenia, 3 (55), 2003

CONTENTS

Original articles

Movsesyan V.M. Actual problems of interstate and international co-operation for water-supply in Armenia	183
Hovhannisyan R.H., Carstens R.P. Cell type specific splicing of a heterologous exon mediated by <i>cis</i> elements from fibroblast growth factor receptor 2 Pre-mRNA	191
Bouriaiko I.A., Astapovich N.I., Dubatouka S.I., Lobanok A.G., Antranikian G. Isolation and characterization of starch-utilizing lactic acid bacteria	198
Shamtsyan M.M., Afrikan E.G., Antranikian G. Continuous production of lactic acid	204
Shamtsyan M.M., Bochkova A.P., Pantyuk O., Antranikian G., Afrikan E.G. Influence of microbial growth regulator hydropterine on lactic acid fermentation	210
Abelyan V.H., Balayan A.M. Enzymatic synthesis of lactosucrose	214
Vardanyan N.S., Hakobyan V.P. Ecology of chemolithotrophic bacteria important for biotechnology of metals in sulfide ore deposits of Armenia	220

Short communications

Gevorkyan M.L., Davtyan M.A. The inactivation of arginase by iodoacetate	228
Grigoryan V.G. The quality of water of Hrazdan river and its seasonal dynamics	231
Nikoghosyan V.G., Bagdasaryan I.B. On nitrogen fixation and use of different sources of carbon by communities of the nitrogen-fixing microorganisms	234
Nikoghosyan V.G., Bagdasaryan I.B. Stimulation of nitrogen-fixation diazotrophs by bacteria growing in the communities of the nitrogen-fixing microbes	238
Vardanyan N.S. Pyrite oxidation by sulphur and iron oxidizing bacteria and their associations	242
Navasardyan L.A. Changes in water-soluble fraction of starved yeast protein during the restoration of nitrogen nutrition	245

Reviews

Agabalyan A.S. Prions - the new type infectious nucleic free agents	248
---	-----

Bibliography

Afrikan E.G. H.G. Schlegel. History of microbiology	253
---	-----

Chronics

Vahan Osipovich Kazaryan (to 85 th anniversary of birthday)	255
Levon Arshaluysovich Matinyan (to 80 th anniversary of birthday)	258

Abstract of deponated article

Papoyan A.R., Hovhannisyan S.P., Davtyan M.A. Peroxisomal proteases and peptide-hydrolases of <i>Aspergillus niger</i> R-3	260
--	-----

Նայաստանի կենսաբան. հանդես, 4 (55), 2003

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Արծրունի Գ.Գ., Սոցկի Օ.Պ., Սահակյան Մ.Ա. Էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը լյարդի միտոքոնդրիումների և էրիթրոցիտների թաղանթների ԱՇՖ-ների ակտիվության վրա	263
Պողոսյան Լ.Դ. Մարդու էրիթրոցիտներից և ուռուցքային հյուսվածքներից անջատված պուլսմոնոկլոնալ ֆոսֆորիլազի հատկությունների համեմատական անալիզ	267
Արծրունի Գ.Գ., Ղուլաթյան Դ.Ա. Առնետների լյարդի մորֆոսկոպիկ վիճակը Էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունից հետո	272
Գիմոյան Լ.Գ., Սիլվանյան Գ.Դ., Ղազարյան Ա.Վ. Ուղեղանոթային հիվանդությունների քրոնիկենսաբանական տեսանկյունները	276
Խաչվանքյան Դ.Կ., Դեքիմյան Ա.Ա., Մարտիրոսյան Լ.Վ., Պողոսյան Զ.Է., Դարությունյան Կոզակ Բ.Ա. Կատվի գլխուղեղի 21 ^ր դաշտի նեյրոնների պատասխանները շարժվող տեսողական գրգռիչներին	282
Զավրյան Զ.Մ., Գաբրիելյան Լ.Ա. Որոշ միկրոօրգանիզմների ֆլուորեսցենցիայի ինդուկցիայի ուսումնասիրությունը էքստրեմալ ջերմաստիճանների և տեսանելի լույսի հաջորդական ազդեցությամբ	287
Զաքարյան Դ.Ն., Մարգարյան Շ.Ա., Վարդանյան Մ.Կ., Փարսադանյան Գ.Ա., Մարգարյան Կ.Վ. Դիմեթիլսուլֆոբսիդի ազդեցությունը <i>Chlorella vulgaris</i> կուլտուրայի բջիջներում քլորոֆիլի աճի և պարունակության վրա	291
Մարտիրոսյան Մ.Ա., Աղաջանյան Ա.Խ., Աղաջանյան Ա.Ա., Ղուկասյան Ն.Թ., Կարապետյան Ա.Ս. Տարբեր էֆեկտորների ազդեցությունը լոբու ընդակների պրոլիմի կենսասինթեզի ֆերմենտների ակտիվության վրա	296
Մադոյան Ռ.Ռ. Պլաստիդային պիգմենտների պարունակությունը ցորենի քլորոտիկ հիբրիդում (բժավոր քլորոզ)	302
Դամբարձունյան Գ.Ռ. Կովկասյան գորշ ցեղի հորթերի պաշտպանական հումորալ և բջջային գործոնների դինամիկան	306
Մարտիրոսյան Գ.Վ. Ինուլինազային ակտիվությամբ <i>Bacillus</i> ցեղի շտամների մեկուսացումը և բնութագրումը	310

Մաքևոսյան Ֆ.Ս., Հարությունյան Ս.Ա., Ալեքսանյան Ն.Ս., Ստեփանյան Թ.Ու.	
Պալարաբակտերիաների կուլտուրաների պահպանման մեթոդները	316
Էլիազյան Ա.Ա., Պարոնյան Ա.Խ. Ֆոտոտրոֆ բակտերիաների որոշ ֆերմենտների ակտիվությունը	324

Համառոտ հաղորդումներ

Թումանյան Վ.Յ., Կովալ Ի.Ն. Գլխուղեղի ֆիլոգենետիկորեն տարբեր գոյացությունների փոխհարաբերությունը պայմանական ռեֆլեքսի ձևավորման դեպքում	331
Յավրույան Է.Գ., Հայրապետյան Վ.Տ., Պապով Գ.Յու. Բազկաթևավորների տեսակի և տարիքի որոշումը ըստ արտաքին մորֆոլոգիական հատկանիշների	334
Մանասյան Գ.Գ. Հայաստանում քաղախածառի կենսաէկոլոգիական առանձնահատկությունները	337
Ղարիբյան Ն.Գ. Որոշ բազիդիալ մակրոմիցետների միցելիումի կազմի մոլիբդենի ակտիվության ուսումնասիրությունը	340
Արաքսյանց Ա.Է., Աղաջանյան Ժ.Գ. Նոր միջոցների օգտագործումը պանիրների ֆունգիցիդային մշակման համար	344
Ասցատրյան Յ.Վ., Աֆրիկյան Է.Գ. Սիկոորգանիզմների անվանակարգային տվյալների հենքերի համար «օգտագործողին մոտ» միջավայրի կազմակերպում	347

Биол. журн. Армении, 4 (55), 2003

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Արշրուნი Դ.Դ., Տոցկիյ Օ.Ս., Տաակյան Մ.Ա. Влияние электростатического поля на АТФ-азную активность митохондрий печени и мембран эритроцитов	263
Սոգոսյան Լ.Գ. Сравнительный анализ свойств пуриннуклеозидфосфорилазы из эритроцитов и опухолей человека	267
Արշրուნი Դ.Դ., Դովատյան Ք.Ա. Морфофункциональное состояние печени крыс после действия электростатического поля	272
Դիմոյան Լ.Գ., Տիլվանյան Դ.Դ., Կազարյան Ա.Վ. Хронобиологические аспекты цереброваскулярных заболеваний	276
Խաչվանյան Դ.Կ., Էսկիմյան Ա.Ա., Մարտիրոսյան Լ.Վ., Սոգոսյան Կ.Յ., Արություն-Կոզակ Բ.Ա. Ответы нейронов области 216 коры головного мозга кошки на движущиеся зрительные стимулы	282
Դճաւրշյան Դճ.Մ., Դաբրիւլյան Լ.Տ. Исследование индукции флуоресценции некоторых микроводорослей при последовательном действии экстремальных температур и видимого света	287
Հաքարյան Ա.Ն., Մարքարյան Շ.Ա., Վարտանյան Մ.Կ., Սարսադանյան Դ.Ա., Տարկիսյան Կ.Վ. Влияние диметилсульфоксида на рост и содержание хлорофилла клеток <i>Chlorella vulgaris</i>	291
Մարտիրոսյան Մ.Տ., Ագաճանյան Ա.Խ., Ագաճանյան Ա.Ա., Դուքասյան Ն.Դ., Կարապետյան Ա.Մ. Влияние различных эффекторов на активность ферментов биосинтеза пролина фасолевого зерновки	296
Տաճոյան Ք.Ք. Содержание пластидных пигментов у хлоротического гибрида пшеницы (белокрапчатый хлороз)	302
Ամբարժումյան Դ.Ք. Динамика гуморальных и клеточных факторов резистентности организма у телят кавказской бурой породы	306

Мартirosян Г.В. Выделение и характеристика штаммов рода <i>Bacillus</i> с инулиназной активностью	310
Матевосян Ф.С., Арутюнян С.А., Алексанян Н.М., Степанян Т.У. Методы консервации культур клубеньковых бактерий	316
Элиазян А.А., Паронян А.Х. Активность некоторых ферментов фототрофных бактерий	324

Краткие сообщения

Туманян В.А., Коваль И.Н. Взаимодействие филогенетически различных образований головного мозга при формировании условнорефлекторного поведения	331
Явруян Э.Г., Айрапетян В.Т., Папов Г.Ю. Определение вида и возраста рукокрылых по внешним морфологическим признакам	334
Манасян Г.Г. Биоэкологические особенности рода сумак в Армении	337
Гарибян Н.Г. Исследование казеинолитической активности мицелия некоторых базидиальных макромицетов	340
Араксянц А.Э., Агаджанян Ж.Г. Применение новых средств для фунгицидной обработки плавленых сыров	344
Асцатрян Г.В., Африкян Э.К. Дружественный интерфейс для номенклатурной базы данных микроорганизмов	347

Biolog. J. Armenia, 4 (55), 2003

CONTENTS

Original articles

Artsruni G.G., Sozzkij O.P., Saakyan M.S. Electrostatic field effect on ATP-ase activity in liver mitochondria and erythrocyte membranes	263
Pogosyan L.G. Comparative analyses of the purinenucleosidphosphorilase properties from human tumour tissues and erythrocytes	267
Artsruni G.G., Dovlatyan H.A. Morphofunctional state of the liver of rats after the electrostatic field effect	272
Gimoyan L.G., Silvanyan G.H., Kazaryan A.V. Chronobiological aspects of cerebrovascular diseases	276
Khachvankian D.K., Hekimian A.A., Martirosian L.V., Poghosian K.E., Harutiunian-Kozak B.A. Responses of cat's brain area 21b neurones to moving visual stimuli	282
Javrshyan J.M., Gabrielyan L.S. Research of the induction of fluorescence of some microalgae at consecutive action of extreme temperatures and visible light	287
Zakaryan H.N., Markaryan Sh.A., Vartanyan M.K., Parsadanyan G.A., Sargsyan K.V. The influence of dimethylsulfoxide on growing and contents of the chlorophyll of the hutchies <i>Chlorella vulgaris</i>	291
Martirosyan M.S., Aghajanyan A.Kh., Aghajanyan A.A., Gukasyan N.T., Karapetyan A.M. The influence of different effectors on activity of proline biosynthesis enzymes of the haricot beetlefly	296
Sadoyan R.R. Content of plastid pigments in chlorotic hybrid of wheat (white spot chlorosis)	302
Hambardzumayn G.R. Dynamics of humoral and cellular factors of resistance of Caucasian calves	306

<i>Martirosyan G.V.</i> Isolation and characteristic of genus <i>Bacillus</i> strains with inulinase activity	310
<i>Matevosyan F.S., Harutyunyan S.H., Alexanyan N.M., Stepanyan T.H.</i> Methods of conservation of nodul bacteria cultures	316
<i>Eliazyan A.A., Paronyan A.Kh.</i> Activity of some enzymes of phototrophic bacteria	324

Short communications

<i>Tumanyan V.H., Koval I.N.</i> The interaction of phylogenetically different formations of brain under the formations of behaviour	331
<i>Yavruyan E.G., Ayrapetyan V.T., Papov G.Yu.</i> Determination of <i>Chiroptera</i> species and age by external morphological properties	334
<i>Manasyan G.G.</i> Bioecological peculiarities of the genus <i>Rhus L.</i> in Armenia	337
<i>Gharibyan N.G.</i> Study of caseinolytic activity of mycelia of several basidiomycete mushrooms	340
<i>Araksyants A.E., Agadjanyan G.G.</i> Application of the new means for fungicidal treatment of cheese	344
<i>Astsatryan H.V., Afrikian E.G.</i> User friendly interface for microbial nomenclatural Database	347

Сдано в набор 25.XI.03г. Подписано к печати 26.XII.03г. ВФ 02824
Бумага офсет 1. Печать офсетная. Усл. печ. лист 4.5. Усл. печ. лист 4.9
Тираж 250.

Адрес редакции: 375019, Ереван, пр. Маршала Баграмяна 24 г, к. 11,
Тел. 58-01-97

Отпечатано в типографии НАН РА.